

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD (LYON 1)
UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES ODONTOLOGIQUES

Année 1976

THESE n° 43.12.76.03

THÈSE

pour

le DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR en SCIENCES ODONTOLOGIQUES

présentée et soutenue publiquement le 20 octobre 1976

par

FABRE Jean-Marie

**Etude de la perméabilité
de la muqueuse sublinguale
au glucose, au glyocolle, au sodium
et au potassium**

JURY

MM. le Professeur G. FAUCON	Président
le Professeur R. FONTANGES	Assesseur
le Professeur J. PARRET	Assesseur

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD (LYON 1)
UNITE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE
DES SCIENCES ODONTOLOGIQUES

Année 1976

THESE n° 43.12.76.03

THÈSE

pour

le DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR en SCIENCES ODONTOLOGIQUES

présentée et soutenue publiquement le 20 octobre 1976

par

FABRE Jean-Marie

**Etude de la perméabilité
de la muqueuse sublinguale
au glucose, au glycolle, au sodium
et au potassium**

JURY

MM. le Professeur G. FAUCON

Président

le Professeur R. FONTANGES

Assesseur

le Professeur J. PARRET

Assesseur

THÈSE

pour

le DIPLOME D'ÉTAT de DOCTEUR en SCIENCES ODONTOLOGIQUES

présentée et soutenue publiquement le 20 octobre 1976

par

FABRE Jean-Marie

Étude de la perméabilité de la muqueuse sublinguale au glucose, au glycérol, au sodium et au potassium



JURY

MM. le Professeur G. FAUCON Président
le Professeur R. PONTANGES Assesseur
le Professeur J. PARRET Assesseur

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

TABEAU DU PERSONNEL DE L'UNIVERSITE

Président de l'Université : Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : Professeur E. ELBAZ

Deuxième Vice-Président :

Troisième Vice-Président :

Secrétaire Général : M. RAMBAUD

Unités d'Enseignement et de Recherche de l'Université

MEDECINE	Grange-Blanche : Directeur	: Docteur SALLE (M.C.A.)
	Alexis-Carrel : Directeur	: Professeur C. GIROD
	Sud-Ouest : Directeur	: Professeur J. ROBERT
	Lyon-Nord : Directeur	: Professeur J.P. GARIN
	Directeur Honoraire:	Professeur A. BERTOYE
BIOLOGIE HUMAINE	: Directeur	: Professeur J.C. CZYBA
TECHNIQUES DE READAPTATION	: Directeur	: Docteur MORGON A. (M.C.A.)
SCIENCES PHARMACEUTIQUES	: Directeur	: Professeur ODDOUX
SCIENCES ODONTOLOGIQUES	: Directeur	: Docteur R. VINCENT
INSTITUT REGIONAL D'EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE	:	
	Président du Conseil de l'U.E.R. :	Professeur R. GUILLET
	Directeur	: M. MILLON A.
MATHEMATIQUES	: Directeur	: Professeur BUCHWALTER
PHYSIQUE	: Directeur	: Professeur R. UZAN
CHIMIE ET BIOCHIMIE	: Directeur	: Professeur J. HUET
SCIENCES DE LA NATURE	: Directeur	: Professeur J. BRUN
SCIENCES PHYSIOLOGIQUES	: Directeur	: M. FONTANGES R. (M.C.A.)
I.U.T. n° 1	: Directeur	: Professeur POUYET B.
I.U.T. n° 2	: Directeur	: J. GALLET, Directeur E.N.S.A.M.
OBSERVATOIRE	: Directeur	: Professeur J.H. BIGAY
PHYSIQUE NUCLEAIRE	: Directeur	: Professeur A. SARAZIN
MECANIQUE	: Directeur	: Professeur J. MATHIEU

U.E.R. des SCIENCES ODONTOLOGIQUES

Directeur : Mr Roger VINCENT, Professeur de Catégorie Exceptionnelle
Directeur-Adjoint : Mr Jean PARRET, Professeur de Catégorie Exceptionnelle
Directeur-Adjoint : Mr Henri CHAMBAZ, Professeur 2ème Grade

PREMIERE SECTION D'ENSEIGNEMENT : PROTHESE

Professeur de Catégorie Exceptionnelle : Mr Jacques BRUGIRARD
Professeur 1er Grade : Mr Bernard LALLICH, Mr Charles MALQUARTI
Professeur 2e Grade : Mr André DUMONT, Mr Joseph EXBRAYAT
Mr Lucien TOURTET, Mr Dominique BOIS

DEUXIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Professeur 1er Grade : Mr Jean-Ennemond HESKIA, Mr Henri DEPLAGNE
Professeur 2e Grade : Mr François BRUNNER, Mr Jacques CHASSIGNOL

TROISIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : PEDODONTIE-PREVENTION

Professeur 2e Grade : Mr Michel CAUDMONT

QUATRIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : PATHOLOGIE ET THERAPEUTIQUE DENTAIRES

Professeur de Catégorie Exceptionnelle : Mr Roger VINCENT
Professeur 1er Grade : Mr Louis MATHIEU
Professeur 2e Grade : Mr Pierre BERTOIN

CINQUIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : PARODONTOLOGIE

Professeur 2e Grade : Mr Georges PERDRIX

SIXIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : DENTISTERIE CONSERVATRICE

Professeur 1er Grade : Mr Jean POULARD, Mr Jean PEROL, Mr Robert THOMAS
Professeur 2e Grade : Mr Jean BLANC-BENON, Mr Henri CHAMBAZ
Mr Philippe BONIN, Mr Georges LABE

SEPTIEME SECTION D'ENSEIGNEMENT : BIOLOGIE ET MATIERES FONDAMENTALES

Professeur de Catégorie Exceptionnelle : Mr Jean PARRET
Professeur 1er Grade : Mr Jacques DUMONT
Professeur 2e Grade : Mr Paul LIBOUREL, Mr Henry MAGLOIRE,
Mr Henri VINARD

A LA MEMOIRE DE MON PERE,

A MA MERE,

A MA FEMME ET A MA FILLE,

A MES BEAUX-PARENTS,

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS.

EXAMINATEURS DE LA THESE

- Président : Monsieur le Professeur G. FAUCON
- Assesseurs : Monsieur le Professeur R. FONTANGES
Monsieur le Professeur J. PARRET

" R E M E R C I E M E N T S "

A NOTRE PRESIDENT DE THESE,

Monsieur le Professeur G. FAUCON

Professeur Titulaire de la Chaire de Biologie Médicale
et Pharmacodynamie de l'Unité d'Enseignement et de
Recherche de Médecine (Grange-Blanche)
à l'Université Claude Bernard Lyon I

*Son autorité et sa notoriété dans le
domaine de la biologie médicale et de la
pharmacodynamie nous inspirent une vive
admiration.*

*Nous sommes très sensible à l'intérêt
qu'il a bien voulu témoigner à notre travail
et à l'honneur qu'il nous fait en acceptant
de présider notre jury.*

*Nous le prions de croire à nos sentiments
reconnaissants et respectueux.*

A Monsieur le Médecin en Chef R. FONTANGES

Maître de Recherches du Service de Santé des Armées,
Maître de Conférences à l'Université Claude BERNARD Lyon I,
Chef de la division de Microbiologie du Centre de Recherches
du Service de Santé des Armées

*Après nous avoir enseigné la physiologie
à la Faculté des Sciences, il a bien voulu
nous accepter dans son service de Physiologie
Cellulaire. Malgré des activités multiples il
a trouvé le temps de nous conseiller dans
l'élaboration de cette thèse, et il l'a fait
avec beaucoup de patience et de clarté.*

*Nous l'assurons de notre respect pour ses
qualités d'homme de sciences, et de notre
reconnaissance pour sa valeur humaine.*

A Monsieur le Professeur J. PARRET

Professeur de Catégorie Exceptionnelle,
Directeur-Adjoint de l'U.E.R. des Sciences Odontologiques
de Lyon.

*Il nous a initié à l'histologie bucco-
dentaire ; nous gardons le souvenir de la
clarté et de la précision de son enseignement.*

*Nous lui sommes reconnaissant de l'accueil
qu'il nous a réservé quand nous lui avons
exposé ce travail.*

*Connaissant l'importance qu'il attache à la
promotion des Sciences Odontologiques, nous le
remercions vivement d'avoir accepté de le
juger.*

*Qu'il trouve ici l'expression de notre
considération dévouée et respectueuse.*

AVANT - PROPOS

Cette thèse a été réalisée dans l'Unité d'Enseignement et de Recherches de Sciences Physiologiques, au Laboratoire de Physiologie Cellulaire dirigé par Monsieur le Professeur R. FONTANGES, dans la section de physiologie des membranes placée sous la responsabilité de Monsieur M. BUCLON, Maître-Assistant.

A Monsieur M. BUCLON

Pharmacien,
Docteur ès Sciences,
Maître Assistant de Physiologie Cellulaire.

*Nous lui devons le choix de ce travail
et l'orientation judicieuse qu'il lui a
donnée.*

*Nos débuts difficiles ne lui ont pas
toujours apporté ce qu'il attendait de nous.
Il était là ! Son aide, ses encouragements,
et ses critiques - dont nous le remercions -
sont à la base de nos résultats.*

*Nous admirons la chaleur et la fermeté de
ses directives, et souhaitons que ce mémoire
auquel il a tant collaboré le remercie de son
abnégation et de son inlassable dévouement.*

*Qu'il veuille bien trouver ici l'expression
de notre profonde et sympathique reconnaissance.*

Nos remerciements vont également à tous ceux qui nous ont aidé dans la réalisation matérielle de ce travail et notamment

Monsieur J. GASTELLU

Docteur en Médecine Vétérinaire

Maître Assistant Agrégé

Sa compétence et ses conseils nous ont été très utiles lors de nos recherches histologiques.

Qu'il veuille trouver ici l'assurance de notre sympathique reconnaissance.

Monsieur M. CARTIER

Docteur de spécialité

Assistant de physiologie

Il nous a initié à certaines techniques expérimentales avec une patience sans limites. Nous l'en remercions vivement et l'assurons de notre amitié.

Monsieur J.Y. SOLLAUD

Etudiant de 3e Cycle

Sa pratique de l'électrophysiologie cellulaire nous a été une aide précieuse. Qu'il en soit sincèrement remercié.

R E S U M E

1. La perméabilité des muqueuses sublinguales a été étudiée, "in vitro" chez le PORC. A titre comparatif certaines expériences parallèles ont été faites chez le Mouton.
2. Une recherche histologique préalable montre que chez les deux animaux les zones muqueuses "antéro-médiane" et "ventro-latérales" ont une structure épithéliale, non kératinisée, identique à celle connue chez l'HOMME.
3. L'étude des transferts du glucose dans la région "antéro-médiane", après deux heures d'incubation à 38°C, montre que les dosages chimiques à l'anthrone ne sont pas représentatifs des passages réels, et que la technique utilisant un sucre marqué au ^{14}C fait apparaître des transferts transépithéliaux minimes, de l'ordre de 6,3 nanomoles/cm².
4. Une recherche comparative, faite avec le saccharose ^{14}C , confirme la relative imperméabilité de cette muqueuse aux sucres simples ; le phloridzozide, inhibiteur spécifique des transporteurs, ne modifie pas l'intensité des transferts, d'où l'hypothèse de la nature passive de ces derniers.

l'addition de Thiomucase, facteur enzymatique de diffusion, entraîne une augmentation non significative des transferts ;

l'effet d'une baisse de température est important, mais reste compatible avec un transfert passif ;

la provenance des animaux a une faible influence, alors que leur sexe n'en a pas.
5. L'étude, en fonction de la localisation anatomique des prélèvements, révèle que les zones ventro-latérales sont environ 7 à 10 fois plus perméables au glucose que la zone antéro-médiane.
6. Le potentiel membranaire de la cellule épithéliale sublinguale est de l'ordre de 30 mV à travers la face apicale, et de 42 mV à travers la face basale. Au moyen d'électrodes intra-cellulaires on confirme l'existence d'une différence de potentiel transépithéliale de l'ordre de 12 mV.
7. Le remplacement des ions Na^+ par de la choline dans les milieux d'incubation montre que les deux faces de la cellule épithéliale sont perméables au sodium.
L'enrichissement en ions K^+ des milieux d'incubation montre que les deux faces sont également perméables au potassium.
8. Le courant transépithélial est peu affecté par la suppression des ions Na^+ ou l'augmentation des ions K^+ , traduisant un faible transfert transmurale de ces ions. De même, ce courant transépithélial est insensible à la présence de glucose ou de glyocolle dans le milieu muqueux.
9. En conclusion, la muqueuse sublinguale "sensu stricto" s'avérant peu perméable aux substances organiques ainsi qu'aux ions, il y a lieu d'envisager une distribution plus large des voies de pénétrations possibles des médicaments, lorsqu'ils sont appliqués localement dans la bouche.

S U M M A R Y

1. The permeability of the pig sublingual mucosa has been investigated in vitro, and certain aspects have been compared with that of the sheep.
2. Preliminary histological studies revealed that in these two species, the "antero-median" and "ventro-lateral" mucosae possess epithelial structures identical to those found in man.
3. Investigation of glucose transfer in the "antero-median" region after an incubation of two hours at 38°C showed that measurements made with the anthrone reagent did not provide a true indication of the transport, and that measurements made with radioactive substrate demonstrated the existence of a very low transport, of the order of 6,3 n-moles/cm².
4. A comparative study with labelled sucrose confirmed that the mucosa was relatively impermeable to simple sugars. Phoridzin did not modify their transfer, and so it can be concluded that the movement is passive in nature. Thiomucase caused a small, statistically insignificant rise in transfer. Lowering the temperature depressed the transport to a degree compatible with a passive transfer mechanism. The sex of the animals had no influence on these parameters, though they did vary with the supplier of the animals.
5. The anatomical site of the tissue studied was important : the "ventro-lateral" zones were 7 to 10 times more permeable to glucose than the "antero-median" zones.
6. The potential across the apical membrane of the sublingual epithelial cell is of the order of 30 mV, whereas the potential across the basal membrane is 42 mV. The use of intracellular electrodes confirms the existence of a transmural potential of 12 mV.
7. Replacement of the sodium ions of the external medium by choline causes a hyper-polarisation suggesting that the two faces of the membrane are permeable to sodium. Similarly, potassium provokes a depolarisation, indicating that they are also permeable to this cation.
8. The transepithelial current is little affected by the removal of sodium ions or the increase in potassium. This indicates that the transmural flux of these ions is modest. Furthermore, the current is not affected by the presence of glucose or glycine in the mucosal medium.
9. It is concluded that the sublingual mucosa is only slightly permeable to ions and organic solutes. Therefore, a broader distribution of medicaments should be envisaged when they are administered "in situ" in the oral cavity.

RESUMEN

1. La permeabilidad de las mucosas sublinguales del cerdo a sido estudiada "in vitro". Se hacieran también algunos experimentos paralelos en el carnero a título comparativo.
2. Un estudio histológico muestra que en estas dos especies las zonas mucosas "antero-medial" y "ventro-latérales" poseen una estructura epitelial, no queratinizada, idéntica a la que se conoce en el hombre.
3. El estudio del transporte de glucosa en la región "antero-medial" después de dos horas de incubación a 38°C, muestra que los dosajos químicos llevados con el 9,10 - Dihidro 9 - oxo - antraceno, no son representativos de los pasajes reales.

Por otra parte la utilización de un azúcar marcado con ^{14}C permite detectar un transporte transepitelial mínimo del orden de 6,3 nanomoles/cm².

4. Una investigación comparativa usando la sacarosa ^{14}C confirma la relativa impermeabilidad de esta mucosa a los azúcares simples ;
 - . el floridzósido, inhibidor específico de los transportadores, no modifica la intensidad del transporte, lo que sugiere que es de naturaleza pasiva ;
 - . la adición de la thiomucasa, factor enzimático de difusión provoca un aumento no significativo del transporte ;
 - . el efecto de la disminución de la temperatura es importante pero compatible con la difusión pasiva ;
 - . el origen de los animales tiene un efecto poco importante, no así el sexo que no parece jugar alguno.

5. El estudio, en función de la localización anatómica revela variaciones importantes :

Las zonas ventro-laterales son alrededor de 7 à 10 veces mas permeables a la glucosa que la zona antero-medial.

6. El potencial de membrana de la célula epitelial sublingual es del orden de 30 mV a través de la cara apical y de 42 mV a través de la cara basal. El uso de electrodos intracelulares confirma la existencia de un potencial transepitelial del orden de 12 mV.
7. El remplazo de los iones sodio por la colina en la solución de incubación muestra que las dos caras de la célula son permeables al ion sodio.

El aumento de la concentración de K^+ del medio de incubación muestra que las dos caras de la célula son igualmente permeables al potasio.
8. La corriente transepitelial es poco afectada por la ausencia de iones Na^+ o el aumento de los iones K^+ . Esta es además insensible a la presencia de glucosa o glicina en el lado mucoso de la preparación.
9. En conclusión, la mucosa sublingual "sensu stricto" se muestra poco permeable a las sustancias orgánicas y a los iones. Esto sugiere que cuando se aplican medicamentos localmente en la boca las vías de penetración son distribuidas más ampliamente que la zona sublingual.

S O M M A I R E

	Pages
<u>Introduction</u>	01
 <u>PREMIER CHAPITRE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	
I - ASPECT FONDAMENTAL	03
II - ASPECT THERAPEUTIQUE	07
 <u>DEUXIEME CHAPITRE : MATERIEL ET METHODES</u>	
I - LES ANIMAUX	11
A - GENERALITES	11
1 - L'espace sublingual	11
2 - La muqueuse sublinguale	13
B - LE MOUTON	14
1 - Les sujets	14
2 - Sacrifice de l'animal	14
a - Electronarcose	14
b - Mesures de pH salivaires	15
c - Exsanguination	15
3 - Prélèvement des tissus	16
4 - Dissection	17
C - LE PORC	18
1 - Les sujets	18
2 - Sacrifice de l'animal	19
3 - Mesures de pH salivaires	19
4 - Prélèvement des tissus	20
5 - Dissection	22
II - LES SUBSTANCES A ETUDIER	25
A - MILIEU PHYSIOLOGIQUE SYNTHETIQUE	25
B - LES SUCRES	26
1 - Le glucose	26
2 - Le saccharose	27
C - LE GLYCOCOLLE	27
D - SUBSTANCES DIVERSES	28
1 - Le phloridzose	28
2 - La thiomucase	28

	Pages
III - LES METHODES EXPERIMENTALES	30
A - TECHNIQUES HISTOLOGIQUES	30
1 - Fixation	30
a - Liquide de HALMI	30
b - Solution de BOUIN	31
2 - Inclusion	31
3 - Coloration	31
a - Hemalun-phloxine-safran	32
b - Azan de Heidenhain	33
B - DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX	34
1 - L'unité d'incubation	34
a - Le dispositif de BUCLON-BOURDIER	34
b - Modifications apportées à la Cellule de BUCLON-BOURDIER	37
- Géométrie de la cellule	37
- Fixation de la membrane	38
- Confection de "Portoirs"	40
- Utilisation de ces "Portoirs"	42
- Géométrie d'une cuve et d'un couvercle adaptés à la nouvelle cellule	43
- La Cuve	43
- Le Couvercle	44
2 - L'enceinte thermostatée	47
a - Bain-marie à agitation mécanique	47
b - Bain-marie à agitation par turbulence	47
C - MONTAGES ELECTROPHYSIOLOGIQUES	50
1 - Dispositif à électrodes extracellulaires ..	50-53
a - Appareillage	50
b - Différents cas d'utilisation	51
2 - Dispositif à micro-électrode intracellulaire	51-53
a - Appareillage	51
b - Utilisation	52
D - TECHNIQUES D'ANALYSE	54
1 - Dosage chimique du glucose	54
a - Préparation du réactif de ROE	54
b - Préparation des échantillons	54
c - Protocole de dosage	54
2 - Dosage radioactif par scintillation liquide	55
a - Préparation du réactif de BRAY	55
b - Préparation des échantillons	55
c - Réalisation du dosage	56-57
Addition du réactif	
Conditions de comptage	
Exploitation des résultats	

	Pages
<u>TROISIEME CHAPITRE : RESULTATS</u>	
I - ETUDE HISTOLOGIQUE DE LA MUQUEUSE SUBLINGUALE	58
A - LOCALISATION DES PRELEVEMENTS	58
B - RESULTATS	58
1 - LE PORC	58
a - Muqueuse sublinguale antéro-médiane	58
b - Muqueuse sublinguale ventro-latérale	59
2 - LE MOUTON	59
C - CONCLUSIONS	59
II - EVALUATION QUANTITATIVE DU TRANSPORT DE DEUX GLUCIDES SIMPLES (GLUCOSE ET SACCHAROSE) A TRAVERS LA MUQUEUSE SUBLINGUALE DU PORC	63
A - INTRODUCTION	63
B - CONDITIONS EXPERIMENTALES	63
C - RESULTATS	63
1 - Expériences de références concernant le transport du glucose (Glucose I)	64
2 - Transport du saccharose	64
3 - Addition d'un inhibiteur au milieu d'incubation .	67
4 - Addition d'un facteur de diffusion au milieu d'incubation	67
5 - Influence d'un abaissement de température du milieu d'incubation (Glucose II)	70
6 - Influence du sexe des animaux	70
7 - Influence de la provenance des animaux	70
8 - Importance de la zone du prélèvement tissulaire .	71
D - DISCUSSION	77
III - EVALUATION RELATIVE DU TRANSPORT DU GLUCOSE A TRAVERS LA MUQUEUSE SUBLINGUALE DU PORC	82
A - INTRODUCTION	82
B - CONDITIONS EXPERIMENTALES	83
C - RESULTATS	83
1 - Transfert du glycolle chez le porc	83
2 - Transfert du glucose chez le mouton	83
3 - Transfert du glycolle chez le mouton	84
D - DISCUSSION	91

	Pages
<u>QUATRIEME CHAPITRE : ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE DE LA</u>	
<u>PERMEABILITE DE LA MUQUEUSE SUBLINGUALE</u>	93
I - TRANSFERT DES IONS Na^+ ET K^+	93
A - EXPERIENCES AVEC ELECTRODES EXTRACELLULAIRES ..	93
1 - Perméabilité au sodium chez le porc	93
2 - Perméabilité au sodium chez le mouton	94
B - EXPERIENCES AVEC ELECTRODE INTRACELLULAIRE	95
1 - Perméabilité au sodium chez le porc	95
2 - Perméabilité au potassium chez le porc ...	99
II - RAPPORTS EVENTUELS ENTRE LE TRANSPORT DES IONS	
ET CELUI DES MOLECULES ORGANIQUES	104
A - INTRODUCTION	104
B - METHODES	104
C - RESULTATS	105
1 - Glucose	105
2 - Glycocolle	105
D - DISCUSSION	106
<u>CINQUIEME CHAPITRE : DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS</u>	107-113
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	114

INTRODUCTION

Les modes de pénétration de substances médicamenteuses ou antigéniques dans l'organisme peuvent se diviser en deux catégories : celles qui nécessitent une effraction, et celles qui utilisent une voie naturelle.

Les premières, par injection, mettent le principe actif en contact brutal avec les organes ; bien qu'elles assurent une grande sécurité de pénétration et de rapidité d'action, la diffusion du produit administré, quand il s'agit d'une voie autre que la voie intra-veineuse, peut être discutée.

Les secondes sont représentées par le passage de molécules à travers des barrières cutanées, ou muqueuses. Les muqueuses buccales, que nous avons choisies pour notre étude, présentent un aspect multiforme qui conduit à distinguer des zones qui tapissent les joues, le sillon gingivo-jugal, la langue, les parties dures et souples du palais, les gencives, la région sublinguale. Cette dernière n'a encore fait l'objet que d'investigations limitées. Au Laboratoire de Physiologie Cellulaire de Lyon (Section de Physiologie des Membranes), un premier travail a été effectué par notre Confrère BOURDIER (1) qui a étudié les modalités de transport de quelques molécules protidiques.

Pour poursuivre cette étude de la perméabilité de la muqueuse sublinguale, il nous a paru intéressant de rechercher le mode de transfert de molécules glucidiques et protéiques, et de considérer son aspect électrophysiologique.

Nous avons divisé notre travail en cinq chapitres :

- . le premier correspond à une étude bibliographique traitant des aspects fondamentaux, et thérapeutiques, de la question ;
- . le deuxième présente le matériel animal utilisé, les substances à étudier, et les méthodes expérimentales qui sont employées ;
- . dans le troisième chapitre, nous exposons des résultats qui concernent :
 - l'histologie des muqueuses sublinguales du mouton et du porc ;
 - le transfert de deux sucres simples, le glucose et le saccharose, étudiés quantitativement à travers la muqueuse sublinguale du porc, en fonction de divers paramètres : inhibiteur, agent de diffusion, température, sexe, provenance animale, et localisations anatomiques ;
 - l'évaluation relative du transport du glucose par rapport au glyco-colle, chez le porc, et chez le mouton ;
- . le quatrième chapitre, traite de l'étude électrophysiologique de la perméabilité de la muqueuse sublinguale du porc, aux ions Na^+ et K^+ , et des rapports éventuels entre le transport des ions et celui des molécules organiques ;
- . enfin, le cinquième chapitre est consacré à une discussion générale et à des conclusions thérapeutiques chez l'Homme.

PREMIER CHAPITRE :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

La bibliographie fondamentale de la question ayant été développée dans la thèse de BOURDIER (1), nous n'en reprendrons ici que les points principaux. Par contre, nous compléterons cette étude par l'exposé de documents d'intérêt thérapeutique.

1. ASPECT FONDAMENTAL

I. Dès 1902, OVERTON (2) suggère que la muqueuse buccale est un lieu de passage de substances médicamenteuses. Ses travaux montrent qu'il existe une relation directe entre l'activité narcotique de divers médicaments et leur solubilité dans les substances lipidiques. Cette hypothèse admet que les membranes cellulaires sont essentiellement de nature lipidique. Il en résulte que, pour qu'une médication puisse atteindre la circulation, elle doit posséder une solubilité biphasique puisqu'elle doit être soluble, non seulement dans la phase aqueuse des liquides buccaux, mais aussi dans la phase lipidique de la membrane cellulaire.

II. WALTON, de 1935 à 1944 (3 à 6), s'appuyant sur cette conception lipidique des membranes épithéliales, considère qu'une substance doit franchir plus aisément la structure membranaire si elle est plus liposoluble, et entreprend une série de recherches pharmacologiques dans ce sens.

Comparant des résultats obtenus chez l'Homme et chez le chien, il conclut à une perméabilité moindre des muqueuses humaines ; et observe que les passages, par voie buccale, sont inférieurs à ceux obtenus par injections sous-cutanées, et qu'il faut, pour obtenir des concentrations sanguines égales d'une même substance, employer des doses supérieures si la voie buccale est adoptée.

Le facteur de multiplication serait, par exemple, de 15 pour la codéïne. L'adrénaline et l'insuline n'entraînaient pas d'effet par voie sublinguale, même à doses élevées.

A ce stade de ses investigations, WALTON pense qu'il pourrait exister un rapport entre l'absorption des substances par voie sublinguale et leur coefficient de solubilité huile - eau. Les travaux qu'il effectue en 1944 (6) confirment cette hypothèse, notamment dans le cas des alcaloïdes, et des produits chimiquement apparentés. Les résultats obtenus lui permettent de définir un coefficient de répartition eau - lipides, de l'ordre de 40 à 2.000, vis-à-vis des substances (absorbables, ou non) :

. les médicaments ayant un coefficient supérieur à 2.000 seraient tellement solubles dans les lipides qu'il serait difficile d'en avoir une concentration suffisante dans l'eau,

. par contre, ceux dont le coefficient est inférieur à 40 seraient si solubles dans l'eau qu'il en faudrait des doses très élevées pour obtenir le même effet thérapeutique, par voie muqueuse buccale, que celui obtenu par voie sous-cutanée.

Autrement dit, les substances dont l'absorption est peu importante auraient un coefficient de solubilité huile - eau faible, alors que celles qui sont bien absorbées auraient un coefficient de solubilité élevé.

WALTON conclut que la seule connaissance du coefficient de répartition eau - lipides peut permettre de prévoir l'importance du passage des substances. Il en déduit que les passages, au niveau des muqueuses étudiées, auraient vraisemblablement un caractère purement passif.

III. A partir de 1967, un regain d'intérêt se dessine pour les problèmes de perméabilité buccale. BECKETT (7 à 13) publie une série de résultats obtenus, in vivo, chez l'Homme.

La méthode consiste à déposer, dans la bouche, 25 ml d'une solution médicamenteuse. Il est demandé au patient, d'exécuter, pendant cinq minutes, des mouvements des joues et de la langue, la tête étant inclinée en avant pour éviter la déglutition. Au terme de cette expérience, la solution est récupérée, et la comparaison entre les concentrations initiale et finale permet de déterminer la quantité absorbée.

Successivement sont étudiées les amphétamines (7-8), certains acides gras (9), les acides p.n. alkylphénylacétiques (10), la pentazocine° (II), les barbituriques (12) et les alcaloïdes du tabac (13).

Les principales conclusions de cet auteur sont les suivantes :

- . il y a une relation linéaire entre la concentration d'une substance dans le liquide buccal et la quantité absorbée ;
- . le taux d'absorption est fortement influencé par le pH des solutions ;
- . les observations de WALTON sont confirmées en ce qui concerne la relation entre le taux d'absorption et le coefficient de répartition huile - eau ;
- . la mesure de ce coefficient peut être obtenue en utilisant, comme solvants lipophiles le n - hexane ou le n - heptane, bons modèles représentatifs de l'épithélium buccal ;
- . le transport, à travers les muqueuses buccales, ne peut être que passif.

Nous noterons que les travaux précédemment cités ne tiennent pas compte des différences de perméabilité qui peuvent exister entre les diverses régions de la cavité buccale. Or nous verrons que la région sublinguale présente un intérêt thérapeutique, exploité, et non négligeable.

° pentazocine : hydroxy -8 diméthyl -6,II (méthyl -3 butène 2 yl)

-3 hexahydro - 1,2,3,4,5,6 méthano -2,6 benzozocine- 3.

IV. L'originalité des travaux récents de BOURDIER (1973) (14 à 16) a été de développer une technique et une méthodologie permettant d'effectuer des expériences facilement reproductibles sur cette zone bien individualisée. Trois études ont été réalisées par cet auteur, pour rechercher la perméabilité de la muqueuse sublinguale à des molécules protidiques :

. Une première étude, effectuée "in vitro" sur des muqueuses de rat et de mouton, avec la L. Proline et le glycolle :

- a permis de montrer que la vitesse de transport était constante, et que l'absorption maximale se situe dans la région du frein ;
- par ailleurs, les influences exercées par la température, d'une part, et l'absence d'action d'un inhibiteur métabolique, d'autre part, ont permis d'admettre un mécanisme de transfert purement passif ;

- enfin, des expériences de perméabilité comparée ont mis en évidence :

- . une diminution du transfert pour une faible augmentation du poids moléculaire de l'acide aminé, ce qui est en accord avec la nature purement passive du transfert ;
- . une différence de perméabilité de la muqueuse à un même acide aminé entre les espèces animales ;
- . une perméabilité de la muqueuse sublinguale élevée, si on la compare à celle de la muqueuse intestinale (partie passive du transfert), d'où l'intérêt de son étude.

. Une deuxième série d'expériences, effectuées chez le rat, en utilisant, cette fois, une méthode "in vivo", a donné des résultats identiques à ceux qui avaient été obtenus "in vitro", confirmant ainsi la nature purement passive du transport.

. Une troisième étude a montré "in vivo", chez le rat, l'imperméabilité totale de la muqueuse sublinguale à l'anatoxine tétanique purifiée. La réponse anticorps, dans les vaccinations par aérosols, est donc uniquement due au captage de l'antigène par le système respiratoire.

2. ASPECT THERAPEUTIQUE (°)

Notre but était d'obtenir des informations, d'une part sur les lieux de passage, des médicaments à travers les différentes muqueuses buccales, et, d'autre part, sur les modes de transfert supposés.

. Du point de vue des régions anatomiques concernées, les hypothèses avancées sont très variables : certains admettent le passage des substances au niveau de zones dites "perlinguales" "périlinguales", d'autres considèrent le sillon gingivo-jugal, la région sublinguale, et, à l'extrême, l'ensemble des muqueuses de la cavité buccale, comme étant des régions de passage possible.

. En ce qui concerne les modes de transfert, aucune explication physiologique particulière n'a pu être relevée.

I. Parmi les documents qui nous ont été communiqués, l'un des plus intéressants concerne le PERLINGOR. Ce médicament, utilisé dans le traitement d'affections anales, dont les hémorroïdes, est préparé à partir de plexus veineux hémorroïdal de porc. Il se présente sous la forme de comprimés, que l'on doit laisser désagréger, lentement, sous la langue.

(°) La littérature correspondante nous a été obligeamment fournie par les laboratoires pharmaceutiques.

" La fraction active de l'extrait de plexus hémorroïdal de porc a une structure chimique polypeptidique. Or, l'action spécifique de tels matériaux protéiques sur les organes homologues est connue depuis les travaux de SIVORI (17) (1929). Celui-ci, à cette époque, mettait en évidence les faits suivants :

- . l'injection sous-cutanée d'un lysat d'organe de structure polypeptidique agit comme stimulant de cet organe,
- . la voie gastro-intestinale donne les mêmes résultats que la voie sous-cutanée, mais l'action est beaucoup plus lente,
- . l'injection intraveineuse d'un lysat d'organe provoque, au contraire, l'atrophie de l'organe homologue.

La cause de cette action différente, suivant le mode d'administration, n'est pas encore bien élucidée.

Il semble cependant qu'un lysat d'organe :

- . introduit par voie lente dans la circulation générale (voie capillaire, sublinguale, par exemple) puisse induire la formation d'enzymes stimulant la régénération cellulaire de l'organe homologue atteint, ou agir comme activateur de proenzymes déjà présents ;
- . par contre, l'introduction brutale dans l'organisme (voie intra veineuse) de lysats d'organe homologue, entraînerait une réaction du type auto-immunitaire provoquant des lésions de l'organe homologue. "

L'application thérapeutique de ces résultats expérimentaux revient à VALLS CONFORTO (18) (1948). Celui-ci, à la recherche d'un traitement de la rectocolite hémorragique, reproduit chez l'animal les expériences de SIVORI en utilisant des lysats d'intestin d'omnivore. Ces lysats, administrés cette fois, par voie buccale, chez l'animal atteint de lésions hémorragiques de l'intestin, entraînent une amélioration de l'affection.

Exploitant les résultats dus à cette analogie d'organes rapportée par SIVORI, WALLS CONFORTO utilise alors, chez l'homme, des lysats de plexus veineux hémorroïdal d'omnivore. Il constate, de la même manière, qu'à doses minimales, ces lysats ont un effet bénéfique local sur les poussées hémorroïdaires.

Nous retiendrons essentiellement de ces travaux que la voie sublinguale est considérée comme la plus adéquate, en raison de la LENTEUR du passage des molécules.

II. A l'opposé d'une absorption médicamenteuse lente, il faut rapporter les résultats obtenus avec la TRINITRINE, dont les effets cliniques indéniables témoignent, au contraire, d'une introduction RAPIDE dans la circulation sanguine (°).

III. L'efficacité de certaines HORMONES, transférées par voie sublinguale, a aussi été mise en évidence - C'est ainsi que SPENCE A.W. (19) signale l'action de la testostérone ; et que MIESCHER K. et FASCHE-P. (20) constatent un effet identique, mais plus lent, de la méthyltestostérone.

IV. L'aspect immunologique de certains travaux, effectués récemment, à l'aide d'antigènes absorbés par voie buccale, doit enfin être considéré :

Ainsi CHAMBAZ H. (21) (1973), a pu montrer que l'absorption locale de "microcettes" (comprimés à délitement buccal) de la spécialité IMUDON (°°) entraînait une réaction immunitaire liée au passage permucueux des antigènes contenus dans ce médicament. Cette absorption se ferait principalement au niveau des muqueuses gingivales et des glandes salivaires.

(°) ATRILON -5 (Laboratoires WINTHROP), par exemple, à absorber par voie sublinguale.

(°°) IMUDON - Laboratoires SARBACH.

Il s'agirait d'un processus local puisque l'on note une augmentation des anticorps locaux et la sécrétion de lysozyme après traitement. Le phénomène semblerait donc bien faire intervenir un passage per-muqueux des antigènes. Aucun antigène n'est entraîné dans la circulation puisque les immunoglobulines sériques ne sont pratiquement pas augmentées.

CHAMBAZ constate en outre que la conservation des comprimés d'IMUDON sous la langue est moins efficace que lorsqu'ils sont placés sur la langue.

Au terme de cette revue bibliographique, nous noterons sa remarquable pauvreté et la rareté d'expériences "in vitro".

- . Sur le plan fondamental, la plupart des travaux concerne la recherche de conditions optimales d'absorption de médicaments en fonction de constantes physico-chimiques. Des résultats obtenus, les auteurs concluent à un mécanisme passif du transfert des molécules étudiées.
- . Grâce à une méthodologie stricte BOURDIER et Coll. apportent des arguments précis "in vitro" et "in vivo" concernant la perméabilité de la muqueuse sublinguale d'animaux à plusieurs substances protéiques.
- . Chez l'HOMME les considérations thérapeutiques font apparaître des différences considérables des effets cliniques. C'est ainsi que l'on observe des absorptions lentes (c'est le cas du Perlingor) ou, au contraire rapides (cas de la Trinitrine), bien qu'il s'agisse de transferts au niveau d'une MÊME région anatomique.

DEUXIEME CHAPITRE :
MATERIEL ET METHODES

Dans cet exposé, nous envisagerons successivement :

- . les animaux utilisés pour nos expériences,
- . les produits chimiques qui ont été dissouts dans un milieu physiologique synthétique de base (KREBS H.A., HENSELEIT K.) (22)

sucre simple	. Glucose	30 mM/litre
	. Saccharose	30 mM/litre
acide aminé	Glycocolle	30 mM/litre
agent inhibiteur	Phloridzose	10^{-3} M/litre
enzyme	Thiomucase	0.67 TRU/ml

- . les différentes techniques employées.

1. LES ANIMAUX

Nos études de perméabilité ont été exclusivement effectuées sur le PORC et le MOUTON.

A. Généralités - Définition de la muqueuse sublinguale

Nous la situons par rapport à l'espace sublingual dont il est utile, dans un premier temps, de faire un bref rappel, inspiré de TESTUT L. et LATARJET A. (23).

1. L'espace sublingual

Une coupe sagittale (figure 1) montre qu'il présente un aspect schématique triangulaire délimité :

- . à sa base par une concavité des muscles génio-glosses qui rejoignent les apophyses génio supérieures en passant en-dessous des glandes sublinguales.
- . à sa partie supérieure par une surface tapissée d'une muqueuse qui recouvre l'ensemble glandulaire et s'étale pour rejoindre la muqueuse gingivale périphérique.

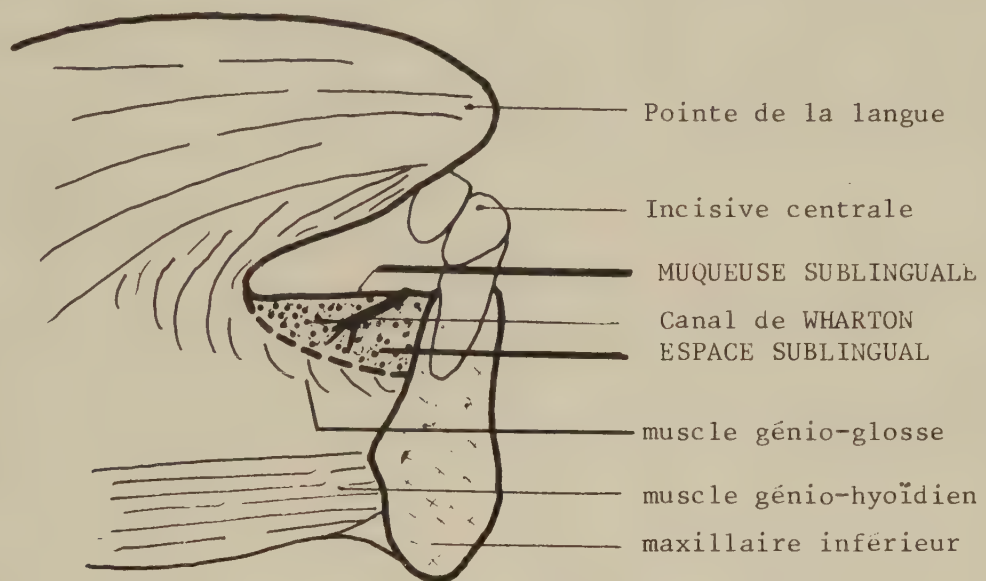


Figure 1 - L'ESPACE SUBLINGUAL (Schématisé en coupe sagittale)

- . la partie antérieure de cet espace répond à la symphyse mentonnière dont elle occupe la hauteur qui sépare les apophyses géni du rebord alvéolaire.

Il est capital de souligner que cet ensemble ne comporte aucune couche musculaire. Son sommet postérieur, différent suivant les sujets et les espèces animales, correspond à la zone où la muqueuse commence à se séparer des faisceaux des muscles de la langue.

Toute cette zone, très proche d'un important réseau ganglionnaire d'une part, est largement vascularisée par les branches terminales des artères et des veines sublinguales d'autre part. Ce double ensemble circulatoire est capable d'assurer une diffusion rapide dans l'organisme des substances ayant traversé la muqueuse sublinguale.

2. La Muqueuse sublinguale

Nous adoptons la définition globale donnée par BOURDIER qui la considère comme une partie du revêtement buccal très individualisée, recouvrant la face inférieure de la langue dépourvue d'insertions musculaires, et le plancher buccal.

La répartition anatomique de cette muqueuse est différente suivant les espèces animales (Figure 5).

Nous sommes conduits à distinguer deux zones différentes :

- . l'une, ANTERO MEDIANE, unique ;
- . l'autre, bilatérale et symétrique, qui tapisse les régions postérieures du plancher de la bouche, et que, du fait de sa situation dans la partie ventrale de la langue, nous qualifions de VENTRO-LATERALE.

L'observation de cet ensemble muqueux montre qu'il présente aussi un aspect triangulaire dont le sommet est génien, la base postéro-sublinguale, et dont les côtés sont limités par les rebords internes de la mandibule.

B. Le mouton

1. Les sujets

Ils proviennent en majorité d'élevages des Alpes Françaises (°). Ils sont âgés de 6 à 8 mois. Leur poids varie de 20 à 30 Kilogrammes. Dans chaque lot expérimental nous avons choisi autant de mâles que de femelles.

2. Sacrifice de l'animal

Il a lieu aux abattoirs de la Mouche à Lyon, et comporte deux étapes :

- . életronarcose,
- . exsanguination.

a - Electronarcose

La technique consiste à appliquer deux électrodes humides de part et d'autre de la tête, au niveau des faces pariétales du crâne, livrant passage à un courant continu de 96 volts ; ce voltage a été déterminé de façon précise :

- . Nous avons constaté que, s'il est inférieur, il n'entraîne pas une életronarcose utile et suffisante.
- . S'il est supérieur, il provoque une rupture des vaisseaux sanguins, d'où formation d'hématomes visibles dans les masses musculaires; dans ce cas on peut imaginer que les muqueuses elles-mêmes soient lésées.

Le temps d'application des électrodes est de l'ordre de 2 à 3 secondes. En principe, l'animal tombe, foudroyé.

(°) Un arrivage exceptionnel de moutons HONGROIS, nous a permis d'étudier le transfert de glyocolle $^{14}_C$ sur deux sujets (désignés par H. Tableau XXV) (45).

b - Mesures de pH salivaires

Après électronarcose, et avant exsanguination, nous avons mesuré les pH salivaires sublinguaux antéro-médian et ventro-latéraux (°).

40 animaux, d'origines et sexes divers, à jeûn depuis 18 - 20 heures, ne présentant pas d'affections buccales ont été examinés entre 5 - 6 heures du matin, à l'aide de papier pH.

Six tests sont faits pour chaque animal :

- . 2 dans la zone antéro-médiane,
- . 2 dans chacune des zones ventro-latérales. La moyenne des colorations se situe entre 5 et 7 de l'échelle des teintes, témoignant d'une certaine acidité.

c - Exsanguination

Cette étape est pratiquée par section du carrefour carotides - jugulaires. Elle est obtenue au bout de 30 à 40 secondes.

(°) Nous n'avons pas connaissance de références bibliographiques se rapportant à ces mesures chez le mouton, ni chez le porc.

CHEZ L'HOMME - divers auteurs, dont WALTON (4), BECKETT (7), MOFFAT (9) ont montré que les taux d'absorption sont influencés par le pH des solutions thérapeutiques. Si celui de la salive est variable, il se produit un système tampon médicament - salive. Nous avons observé, toujours à l'aide de papier pH, (sur 200 patients) des colorations très variables dont les limites sont 4 et 8. Le caractère alcalin apparaît dans 8 % des cas. De telles variations ont été observées par ÖSTER-R.H. et Coll. (24), CLEMENTS-R.M. (25), GANDUS-C. (26).

3. Prélèvement des tissus

Après exsanguination le mouton est décapité. Sur la tête obtenue nous procédons à une large incision des commissures labiales et des joues, puis à une section profonde des muscles masseters et ptérygoïdiens. Cette préparation est importante : elle permet, par une forte traction manuelle, de désarticuler la mandibule au niveau des articulations temporo-maxillaires, ce qui rend le champ opératoire très accessible ; la langue est soulevée et étirée latéralement.

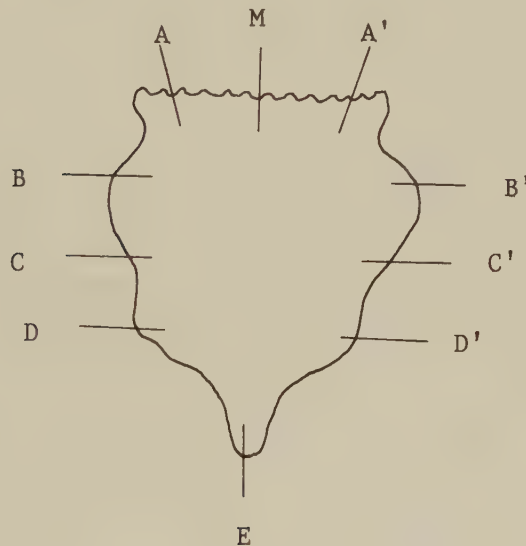


FIGURE 2 - PRELEVEMENT DE LA ZONE SUBLINGUALE (Voir Texte)

L'excision de l'organe est obtenue de la manière suivante :

- a - une incision unilatérale superficielle libère la muqueuse à partir d'un point postéro-ventral musculaire A, suit le contour distal de la muqueuse sublinguale B, C, D, et aboutit à proximité du frein E qu'il est capital de ne pas sectionner. La langue est inclinée sur la face opérée. Une incision symétrique A' B' C' D' E est faite du côté opposé,

- b - l'extrémité fibreuse du frein ainsi sauvegardée, est saisie à l'aide d'une pince de Kocher,
- c - l'étape suivante consiste à libérer l'insertion génienne E, à disséquer le plancher buccal pour aboutir, par sections profondes droite et gauche, au niveau musculaire A-A', puis à amputer la pointe de la langue de sa partie antérieure sous laquelle la muqueuse sublinguale est intacte.

Le prélèvement, libéré de sa pince de Kocher, est immergé dans un flacon thermostaté à 38° C contenant une solution de KREBS-HENSELEIT glc (22) transporté au laboratoire en 20 à 30 minutes, et immédiatement disséqué.

4. Dissection

. L'ensemble muco-musculaire est disposé sur une plaque de liège imbibée de solution physiologique synthétique, la face muqueuse étant au verso. Son extrémité médiane antérieure E, c'est-à-dire le frein incisif, est fixée par une épingle. Le reste de la préparation est déroulé sous le doigt, étalé à l'aide de précelles mousses, puis fixé, latéralement, sans traction, en D-D' - C-C' et B-B'. Le lambeau postérieur, chargé de résidus musculaires, a tendance à s'enrouler sur l'avant de cette préparation ; il faut l'étirer en arrière et le fixer au moyen d'au moins deux épingles en A-A'.

. La couche muqueuse est finement disséquée. Nous procédons de la façon suivante : au niveau de E, D et D' la muqueuse est libérée de ses insertions fibro-conjonctives à l'aide de ciseaux ou, de préférence, de scalpels. L'incision est prolongée jusqu'à la région médiane de la muqueuse sublinguale. Cette résection mérite une attention particulière car c'est la zone où le risque de perforation est le plus grand et, dans ce cas, la préparation est perdue. Au niveau de C-C' et B-B', le tissu conjonctif est plus lâche, ce qui en facilite la dissection. Celle-ci s'arrête lorsqu'apparaît la portion musculaire de la langue.

Une section postérieure bilatérale, sub-totale B-A - B'-A' libère la muqueuse des muscles auxquels elle n'est plus reliée que par une bande médiane M, d'environ 5 mm.

. Il est alors procédé à un "retournement" de l'ensemble, afin qu'apparaisse sa face muqueuse. Ce retournement est réalisé comme suit :

L'épingle E reste piquée sur son support en liège. Les épingles D-D' - C-C' - B-B' en sont extraites. A-A' en sont seulement retirées, mais conservées au travers de la muqueuse ; elles sont un repère précieux pour l'étape suivante :

Le lambeau muqueux est retourné autour de son point fixe E, étalé, fixé en A-A' dont les épingles sont alors extraites, et remplacées par des homologues piquées dans le sens inverse, c'est-à-dire muco-conjonctif.

Les points B-B', C-C' et D-D', facilement repérables par les pertuis dus à la fixation précédente, et la bande M sont épinglés. Cette dernière est sectionnée, libérant définitivement la préparation de ses attaches musculaires postérieures, d'où la certitude d'expérimenter exclusivement sur la muqueuse sublinguale.

Il suffit de 4 à 5 minutes pour pratiquer une telle opération.

C. Le porc

1. Les sujets que nous utilisons proviennent d'élevages, soit français (région de l'Allier), soit belges.

Nous les désignons par les abréviations :

A = pour Allier,

B = pour Belges.

Leur âge moyen est de 10 mois. Il n'est pas possible de connaître leur poids. Nous l'estimons compris entre 70 et 80 kilogrammes. Dans chaque série d'expériences nous avons choisi autant de mâles que de femelles, désignés par M et F.

2. Sacrifice de l'animal

. Dans un premier temps, le porc, comme le mouton, est soumis à une électronarcose. Il est ensuite suspendu par l'une de ses pattes postérieures à un dispositif qui l'entraîne, tête en bas, dans une salle où il est saigné ; la position verticale prolonge l'irrigation céphalique,

. dans le circuit normal d'abattage, le porc est alors plongé, pendant 3 minutes environ, dans une cuve contenant de l'eau chaude (70 - 80° C). Cette immersion a pour but de préparer le cadavre à l'ablation des soies cutanées. Ce travail à la chaîne ne peut, théoriquement, souffrir aucune interruption. Il présentait pour nous un handicap considérable, puisque les muqueuses buccales ayant subi cette épreuve thermique devenaient inutilisables. La compréhension du personnel des abattoirs nous a permis d'intercepter les animaux nécessaires à nos prélèvements, puis de les réinsérer dans la chaîne.

3. Mesures de pH salivaire

Elles ont été effectuées dans les mêmes conditions que celles décrites pour le mouton ;

la moyenne des colorations se situe entre 6 et 7 de l'échelle des teintes.

4. Prélèvement des tissus

Avant de décrire nos techniques de prélèvements tissulaires, il est utile de rappeler certaines notions d'anatomie comparée :

. Chez de nombreuses espèces, dont l'Homme, les équidés, le chameau et le porc, les deux mandibules se soudent de façon si précoce que leur ensemble peut être considéré comme un os impair (BARONE) (27). Nous considérons aussi que la muqueuse sublinguale suit le même sort et apparaît comme un organe unique.

. De plus, chez le porc, la mandibule présente une particularité intéressante : l'union de ses portions molaires et de sa portion incisive n'est marquée par aucun rétrécissement appréciable ; au contraire, elle est excavée, et forme une sorte de gouttière, large et profonde (Figure 3) (BARONE). Il en résulte que la surface muqueuse prélevable chez le porc est vaste (°) si on la compare à celle du mouton (Figure 4).

(°) Lorsque nous opérons sur le porc, chacune des zones antéro-médiane, ou ventro-latérales, présente une surface suffisante pour recevoir un "portoir", (décrit page 38 - Figures 8-9), ce qui permet, chez cet animal, d'isoler des muqueuses individualisées.

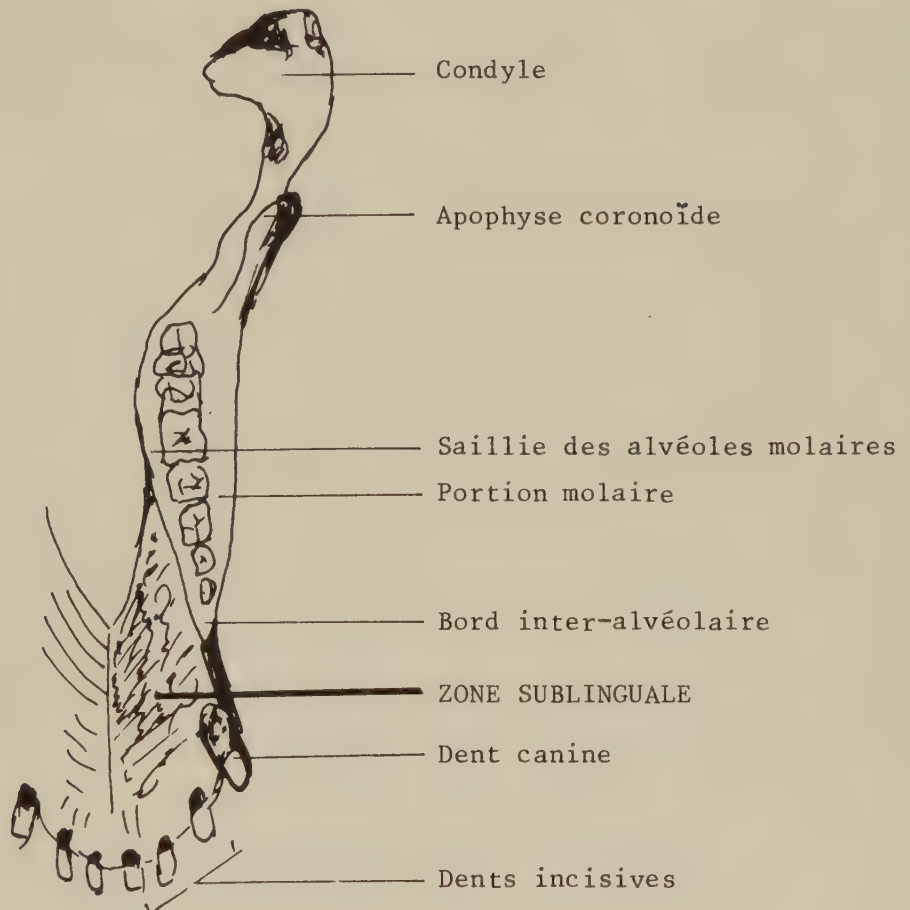


FIGURE 3 - MANDIBULE GAUCHE DE PORC
(Face linguale - d'après R. BARONE)

Après exsanguination, le porc est intercepté au passage de la chaîne d'abattage et allongé sur le flanc ; sa tête est surélevée, et maintenue latéralement, de façon à ce que la bouche reste stable et accessible.

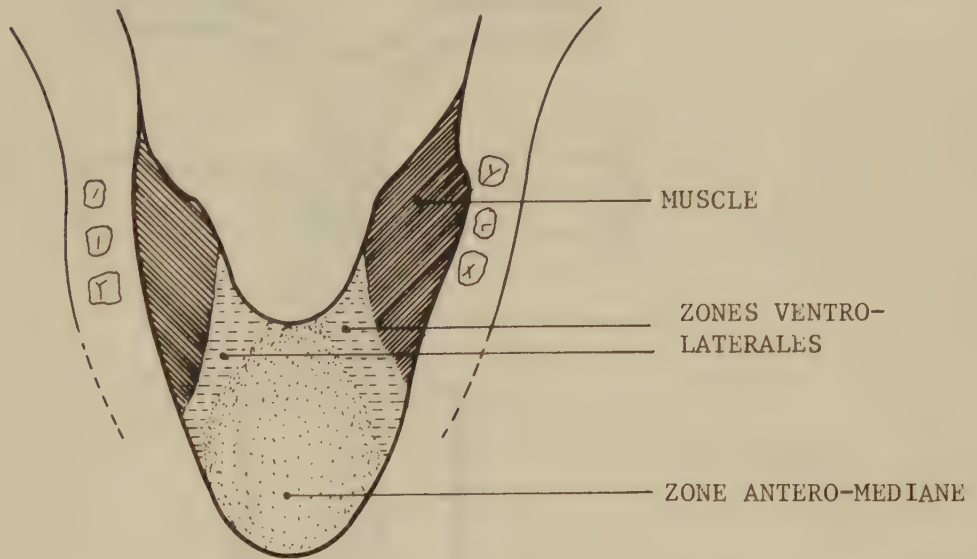
L'extrémité médiane de la langue est soulevée à l'aide d'un gros hameçon - dont l'ardillon a été meulé pour en faciliter le retrait - monté sur un double fil souple, qui est noué à la partie antérieure du rostre.

Un écarteur, aussi efficace qu'artisanal (Figure 5), est alors placé entre les maxillaires. Cet instrument a été réalisé à partir d'un tire-bouchon métallique du commerce ; son principe est simple : sur une bouteille, le serrage des ailettes du tire-bouchon permet, par écartement, d'extraire le bouchon. Le dispositif, convenablement modifié, permet, dans une bouche de porc, toujours par écartement, d'obtenir une ouverture inter-maxillaires rapide, stable et, à la demande, de 5 à 8 centimètres au niveau inter incisif. Sa dépose est obtenue en quelques secondes par desserrage des ailettes. La canine inférieure et les molaires supérieures sont les points d'appui préférentiels.

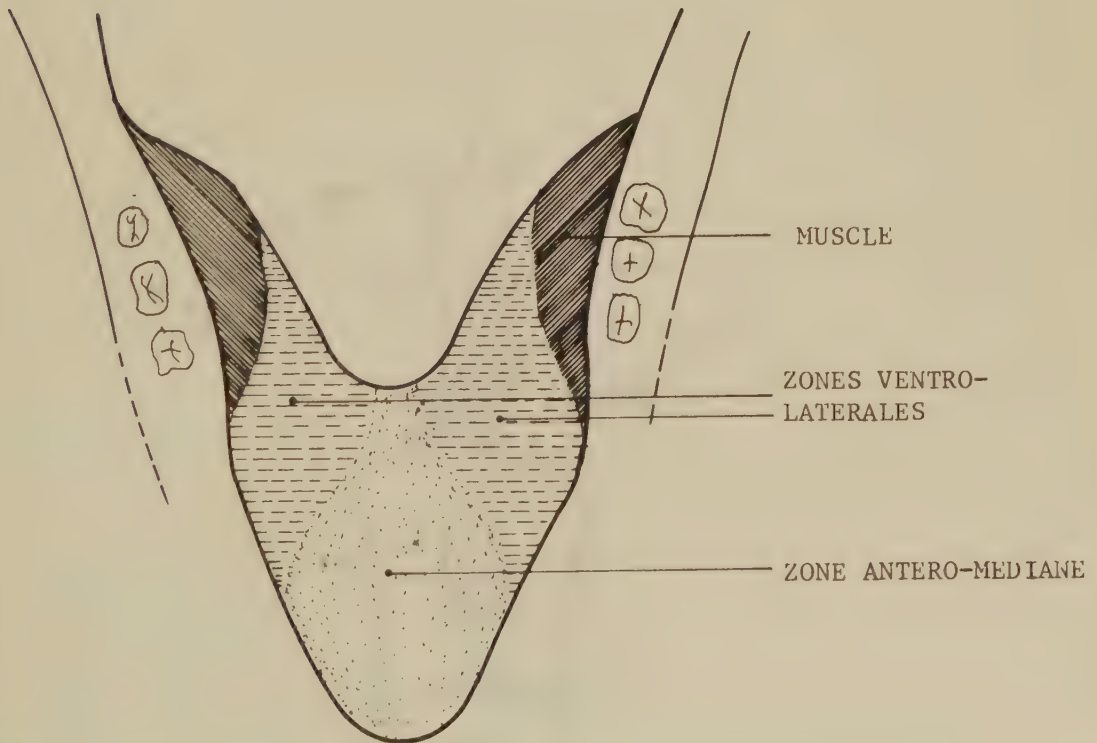
Le prélèvement des lambeaux sublingaux est opéré tel qu'il a été décrit dans le paragraphe mouton, en tenant compte de la morphologie porcine.

5. Dissection

Du fait de la distribution plus étalée des faisceaux fibro-conjonctifs elle conduit, chez le porc, à une muqueuse plus mince que celle obtenue chez le mouton.

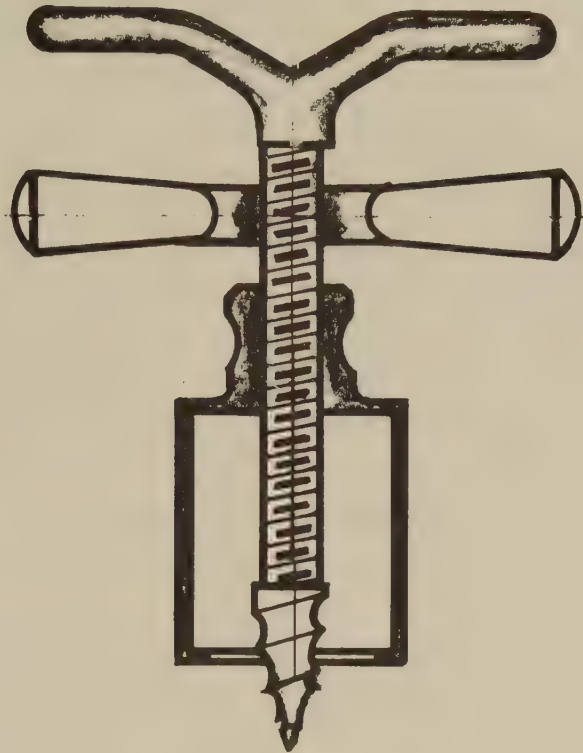


- MOUTON -

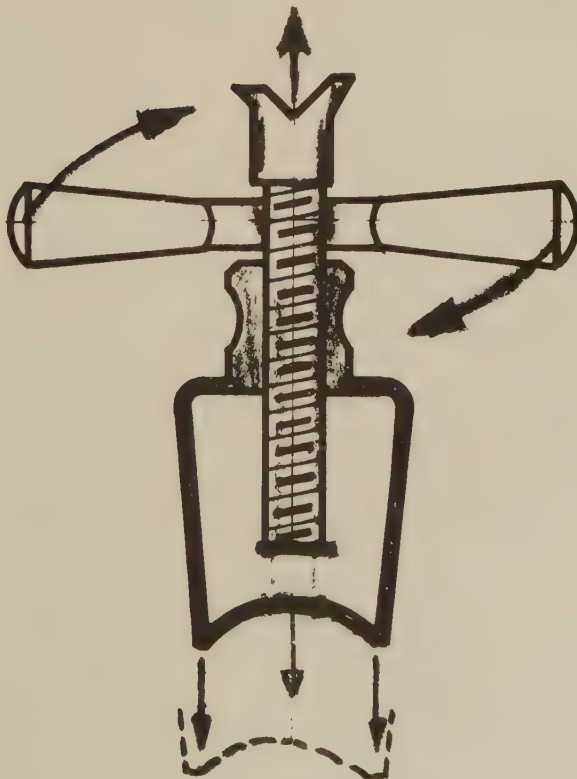


- PORC -

Figure 4 - SCHEMAS COMPARATIFS DES ZONES MUQUEUSES SUBLINGUALES
DU MOUTON ET DU PORC



TIRE BOUCHON DU COMMERCE



ECARTEUR OBTENU APRES MODIFICATIONS

II. LES SUBSTANCES A ETUDIER

Les substances dont nous étudions le transport appartiennent aux deux grands groupes des sucres et des acides aminés. Elles sont dissoutes dans un milieu physiologique synthétique de base, et, dans certains cas, additionnées d'inhibiteur ou d'enzyme.

A. Milieu physiologique synthétique

. Pour toutes nos manipulations, nous utilisons le milieu classique de KREBS - HENSELEIT :

Des solutions séparées des divers constituants sont préparées préalablement : les concentrations respectives utilisées sont les suivantes :

Na Cl	9	°/°°	0,154 M
K Cl	11,5	°/°°	0,154 M
Ca Cl ₂	12,2	°/°°	0,11 M
K H ₂ PO ₄	20,95	°/°°	0,154 M
Mg SO ₄ , 7 H ₂ O	38,2	°/°°	0,154 M
Na H CO ₃	13	°/°°	0,154 M

Ces préparations, conservées à + 4° C, sont renouvelées tous les mois, sauf celle de K H₂ PO₄, qui est refaite tous les dix jours.

. Pour chaque expérience, on mélange extemporanément les constituants d'après les proportions suivantes :

Na Cl	100 volumes
K Cl	4 volumes
Ca Cl ₂	3 volumes
K H ₂ PO ₄	1 volume
Mg SO ₄ , 7 H ₂ O	1 volume
Na H CO ₃	21 volumes.

On complète la formule de KREBS - HENSELEIT en ajoutant du glucose à la concentration de 1 g/litre. Le catabolisme de cette molécule fournit l'énergie métabolique nécessaire aux tissus. Le liquide, ainsi complété, sera désigné ultérieurement par KREBS - HENSELEIT (glc).

Cette solution glucosée est utilisée :

- . pour la conservation des muqueuses, depuis leur prélèvement jusqu'à leur dissection, et au cours de celle-ci ;
- . dans les milieux baignant les faces muqueuses et internes des préparations - sauf sans le cas de l'étude des rapports éventuels entre le transport des ions et celui des molécules organiques - (4e Chapitre. II).

B. Les sucres

Nous avons choisi, pour nos expériences, le glucose (°) et le saccharose (°), afin de pouvoir comparer la perméabilité de la muqueuse sublinguale à deux sucres simples, de structures différentes. Leur concentration a été fixée à 30 m M/litre de liquide d'incubation.

1. Le glucose

Nous l'avons employé sous deux formes :

- . forme "froide", dans le cas de dosages chimiques à l'anthrome ;
- . glucose marqué au ^{14}C (°°), et ajouté à la solution précédente ; dans ce cas nous avons mis au point un dispositif original (Figure 11) afin d'augmenter la concentration de la radioactivité en diminuant au maximum le volume du contenant, ceci pour des raisons économiques. Ce système limite à 40 ml le volume nécessaire pour deux cellules.

(°) glucose et saccharose des Laboratoires MERCK

(°°) D. Glucose ^{14}C (8) ref. CB 1F (C.E.A.)

. On effectue les préparations suivantes :

glucose froid (°)	0,176 g
solution de glucose radioactif (10 μ Ci/ml)	1,95 ml
solution de KREBS - HENSELEIT (glc)	40 ml

. 1 ml, prélevé comme témoin, est dilué à 1 pour 10 000 ; les 39 ml restants sont délivrés, à parties égales, dans chacune des deux cuves d'incubation, soit 19,5 ml par cuve.

La radioactivité finale obtenue est de 0,487 μ Ci/ml.

2. Le saccharose (°°)

Il a été employé uniquement sous forme radioactive. Dès réception, le contenu lyophilisé de chaque ampoule est amené à 10 ml à l'aide de la solution de base. La radioactivité est de 10 μ Ci/ml, comme pour la solution de glucose.

Les dilutions dans la solution physiologique, le prélèvement des témoins, et la répartition dans les cuves expérimentales, sont identiques à ceux décrits pour le glucose, sauf que la quantité de saccharose froid est de 0,411 g pour 40 ml de la préparation finale.

C. Le glycolle (°°°)

Comme pour les sucres, nous utilisons une solution expérimentale à la concentration de 30 m M/litre, constituée d'un mélange des solutions froide et radioactive.

(°) La quantité de glucose froid n'est que de 24,5 m M, compte tenu des 5,5 m M déjà présents dans le liquide de KREBS - HENSELEIT (glc).

(°°) Saccharose 14 C (U) Réf. CB 3F (C.E.A.).

(°°°) Glycolle 14 C (U) Réf. CMM 254 C.E.A. 0,5 ml amené à 10 ml avec le liquide physiologique.

La préparation est la suivante :

glycocolle froid	112,5 mg
solution de glycocolle radioactif 5 μ Ci/ml (°)	1,95 ml
KREBS - HENSELEIT (glc) q.s.p.	40 ml

Dans ce cas, la radioactivité finale n'est que de 0,243 μ Ci/ml.

D. Substances diverses

1. Phloridzoside

Utilisé comme inhibiteur éventuel du transfert du glucose, il est ajouté au milieu d'incubation, à la concentration de 10^{-3} M/litre, soit 19 mg/40 ml.

Sa dissolution est facilitée par l'emploi d'un agitateur magnétique.

2. Thiomucase (84 - 04 C Laboratoire SOLAC - Toulouse)

Nous l'utilisons pour favoriser éventuellement le transfert du glucose. Nous l'avons choisie, de préférence à la hyaluronidase car, à dose égale, elle a un effet diffusant beaucoup plus puissant grâce à un pouvoir dipolymérisant spécifique de l'acide chondroïtine sulfurique, élément de base du tissu conjonctif.

(°) Glycocolle 14 C (U) Réf. CMM 254 C.E.A.

0,5 ml amené à 10 ml avec le liquide physiologique.

Nous employons sa forme lyophilisée, renfermant 100 T.R.U. de THIOMUCASE par flacon (°). Le contenu de chaque flacon est amené à 150 ml avec le liquide KREBS - HENSELEIT (glc), ce qui donne une concentration utile de 0,65 T.R.U./ml.

Le liquide, ainsi modifié, est utilisé à la place du KREBS - HENSELEIT (glc) pour préparer 40 ml d'une solution de sucre froid, et radioactif.

(°) Définition de l'unité T.R.U. de CHONDROSULFATASE :

Dans les conditions du dosage, l'unité de réduction turbidimétrique T.R.U. ("Turbidity - Reducing - Unit") de chondrosulfatase est la quantité d'enzyme nécessaire pour amener, en présence d'une même quantité de sérum de cheval dilué, le trouble provoqué par 0,2 mg d'acide chondroïtine sulfurique à celui donné par 0,1 mg du même substrat (CASTAIGNE A. et ANSELEM A.) (28) (1965).

III. METHODES EXPERIMENTALES

Nous envisagerons successivement les techniques histologiques, les dispositifs expérimentaux utilisés pour l'étude chimique de la perméabilité, les montages électrophysiologiques, et les techniques d'analyse. L'essentiel de cet exposé sera consacré à la description des dispositifs utilisés dans l'étude chimique de la perméabilité, car c'est à ce niveau que se situe l'essentiel de notre apport technique aux solutions précédemment mises au point dans le Laboratoire de Physiologie Cellulaire :

A. Techniques histologiques

Les fragments prélevés sont constitués de muqueuses sublinguales et d'un lambeau de langue. Nous avons utilisé les méthodes suivantes :

1. Fixation

a - Liquide de HALMI

Dissoudre :

- . 4,5 g de chlorure mercurique
- . 0,5 g de chlorure de sodium
- . 2 g d'acide trichloracétique
- dans
- . 80 ml d'eau distillée
- . 20 ml de formol - Ajouter après dissolution
- . 10 ml d'une solution aqueuse saturée d'acide picrique.

Après 24 heures, les prélèvements passent directement dans l'alcool absolu. Les tissus ayant été fixés dans un mélange contenant de l'acide picrique, un lavage à l'eau entraînerait un gonflement des fibres collagènes.

Sont donc effectués :

- . 3 bains d'alcool absolu : 2 de 4 heures - le 3ème de 15 heures
- . 3 bains de toluène : 2 de 4 heures - le 3ème de 15 heures
- . 2 bains de paraffine de 3 heures

b - Solution de BOUIN dont la préparation est la suivante :

- . dans une solution aqueuse saturée d'acide picrique, décantée, puis filtrée - 3 volumes
- . on ajoute formol du commerce - 1 volume
- . et, au moment de l'emploi 5 % d'acide acétique cristallisable.

2. Inclusion dans la paraffine

Le refroidissement demande au moins 24 heures.

Les blocs sont coupés au microtome. Les coupes, d'une épaisseur de 5 microns, sont étalées et collées sur lames. Après séchage de 24 heures à l'étuve à 50° C, on procède à leur coloration.

3. Coloration : Nous avons adopté les méthodes à

- . 1'Hémalun phloxine safran et à
- . 1'Azan de HEIDENHAIN.

(°) Deshydratation et inclusion sont faites sur appareil HISTOKINETTE de la firme O.S.I. (M.S.E.).

a - Hémalun - phloxine - safran

- . Coupes déparaffinées par 2 bains de toluène de 2 mn
 puis 2 bains alcool absolu 2 mn
 puis eau courante
- . Traitement 5 mn par le Lugol (iode 1g, iodure de potassium 2g, H₂ O
 qsp 100 ml) puis par l'hyposulfite de sodium à 5 % jusqu'à décoloration
 des coupes. Cette opération a pour but de dissoudre les précipités de
 mercure qui auraient pu se produire pendant la fixation.
- . Rinçage à l'eau courante 5 mn
- . Coloration à l'Hémalun de MAYER 5 mn
- . Rinçage sommaire à l'eau courante qq secondes
- . Virage des coupes par une solution saturée de carbonate de
 lithium qq secondes
- . Lavage à l'eau courante 10 mn
- . Coloration par une solution de phloxine à 1 % 2 mn
- . Rinçage à l'eau courante 2 mn
- . Différenciation à l'alcool à 70° 2 mn
- . Différenciation à l'alcool à 90° 2 mn
- . Passage à l'alcool absolu
- . Coloration par le safran 4 mn
- . Passage à l'alcool absolu rapide
- . Eclaircissement au toluène
- . Montage au Kaedax
- . Séchage à l'étuve à 56° C

b - Azan de HEIDENHAIN

- . Coupes déparaffinées - 2 bains de toluène de 2 mn
 - 2 bains alcool absolu 2 mn
- . Traitement par la collaïdine
 - . plonger les coupes dans une solution à 1 % de collaïdine dans un mélange à parties égales d'alcool absolu et d'éther
 - . égoutter à l'air libre 2 mn
 - . plonger dans un mélange d'alcool à 95° 9 volumes formol 1 volume
- . Hydratation des coupes
- . Traitement par le lugol 5 mn
- . Décoloration par l'hyposulfite de Na
- . Rinçage à l'eau courante 5 mn
- . Traitement à l'alcool aniline 15 mn
- . Coloration à l'azocarmin à 60° C 60 mn
- . Rinçage à l'eau distillée qq secondes
- . Différenciation à l'alcool aniliné 2 à 3 mn
- . Traitement à l'alcool acétique 30 secondes
- . Traitement à l'acide phosphotungstique 30 mn
- . Rinçage à l'eau distillée
- . Coloration par le bleu de HEIDENHAIN 30 mn
- . (mélange de bleu d'aniline et d'orange G)
- . Deshydratation à l'alcool absolu
- . Eclaircissement au toluène
- . Montage au Kaedax
- . Séchage à l'étuve à 56° C.

B. Dispositifs expérimentaux utilisés pour l'étude chimique de la perméabilité

Ces dispositifs sont de deux ordres : ils concernent l'unité d'incubation, c'est-à-dire la cellule sur laquelle les muqueuses sont disposées, et les enceintes thermostatées dans lesquelles la préparation est introduite.

1. L'unité d'incubation

a - La cellule de BUCLON - BOURDIER

L'appareillage initial a été imaginé en 1968 par BUCLON M. Par un astucieux artifice technique, l'auteur a mis au point une cellule d'absorption (Figure 6) qui reproduit le principe du "sac retourné" décrit par WILSON et WISEMAN (29) pour l'étude de la perméabilité d'épithéliums intestinaux. On sait que cette méthode permet d'avoir le côté muqueux à l'extérieur du système, et le côté séreux à l'intérieur.

De la même façon, le montage utilisé pour l'épithélium sublingual permet d'exposer la face muqueuse vers l'extérieur du système. Il en résulte que le liquide interne peut avoir un très petit volume, et le liquide muqueux un volume très grand, de telle sorte que la détection d'une substance, passant du milieu externe vers le milieu interne, sera facilitée par la petitesse du volume dans lequel s'effectuera une éventuelle concentration.

Cette cellule expérimentale principes réalisée en Plexiglas (°) a été décrite en 1972 par BOURDIER et Coll. (14) ; pour la compréhension de notre expérimentation nous en rappellerons l'essentiel.

(°) Plexiglas : ce matériau, hydrofuge, évite les rétentions liquidiennes. L'emploi de solvants tels que éther, alcool, acétone, trichloréthylène, est déconseillé. Les vapeurs de ces produits sont plus nocives que les liquides eux-mêmes ; elles sont proscrites. Sous peine de déformations, il ne faut pas dépasser des températures supérieures à 85° C.

Sa stérilisation est faite par passages successifs à l'étuve à 70° C ou par séjour dans une chambre à U.V.

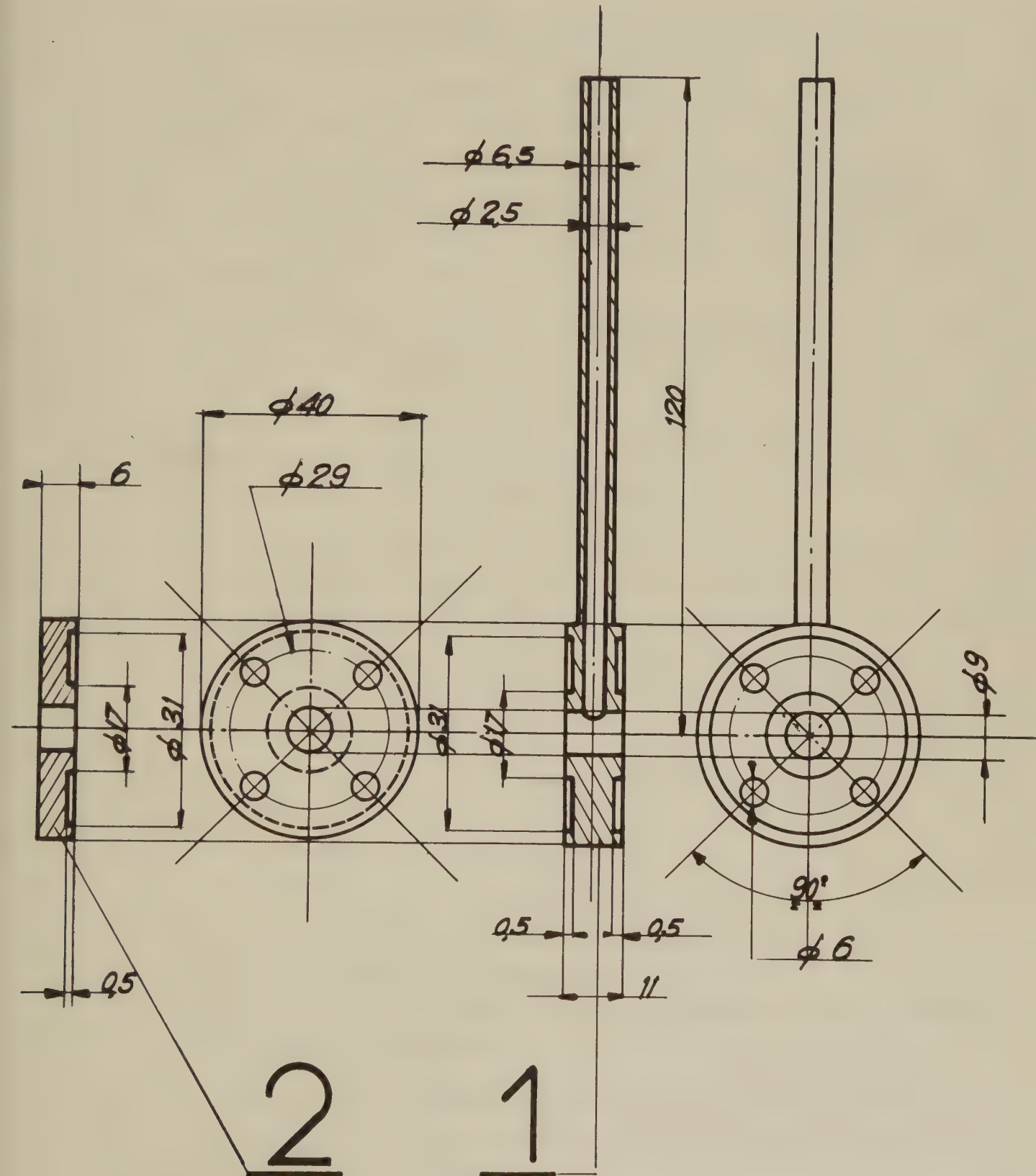


Figure 6 - CARACTERISTIQUES DE LA CELLULE INITIALE DE BUCLON-BOURDIER

L'ensemble est constitué de trois éléments circulaires :

- . une pièce A de 11 mm d'épaisseur, percée d'un orifice circulaire de 113 mm² qui constitue un puits central.
 - sur chaque face latérale de ce corps A est aménagée une gouttière annulaire, concentrique à l'orifice central, de 2 mm de profondeur, au sein de laquelle sont forés, de part en part, 4 trous livrant passage à des boulons de fixation.
 - dans la tranche de A, entre 2 de ces 4 boulons, un tube T est mis en continuité avec le puits central. Sa lumière est de 2 mm,
- . deux pièces B et C, désignées sous le nom d'"embouts" épaisses de 6 mm, percées des mêmes trous, et présentant sur l'une de leurs faces la même gouttière annulaire que les faces latérales de A.
 - Les deux fragments de tissu à étudier sont disposés sur chacune des faces de A, et sont maintenus par l'application des pièces B et C. L'ensemble est assujetti à l'aide de 4 boulons, dont le serrage progressif et symétrique, entraîne une expansion des muqueuses dans les gouttières annulaires. L'étanchéité de ce double joint membranaire est vérifié (BOURDIER et Coll.) (14).
 - Ainsi se trouve délimitée une chambre expérimentale d'un volume de 1,243 cm³.
 - Ce montage est immergé dans un bécher contenant les solutions à étudier diluées dans le liquide physiologique synthétique. La chambre expérimentale reçoit 1 ml de solution physiologique à l'aide d'une seringue munie d'un cathéter. L'ensemble constitue un dispositif à deux compartiments entre lesquels seront étudiés les échanges.

Le principe de cette unité d'incubation est remarquable par son idée initiale, conçue pour des muqueuses de surfaces réduites, telles que celles du rat ou du mouton.

A partir du moment où nous avons pu opérer sur des muqueuses de porc, donc plus vastes, il nous a été possible d'apporter certaines modifications.

b - Modifications apportées à la cellule de BUCLON - BOURDIER

. Elles ont été obtenues après de multiples étapes dont nous ne décrivons que les plus importantes ; elles concernent la transformation de la cellule initiale, puis la mise au point d'un système de fixation de la muqueuse, enfin la réalisation d'une cuve d'incubation correspondant à la géométrie du nouveau dispositif.

a) Géométrie de la cellule

. BOURDIER utilise une cellule circulaire (Figure 6) de faible volume. Dans le but de faire passer l'axe des boulons de serrage au niveau du trottoir extérieur du corps A, nous avons réalisé une nouvelle cellule, à profil carré, (Figure 7). Cette disposition plus excentrée favorise l'étalement de la muqueuse et, surtout, supprime le risque de son enroulement autour de l'axe des boulons.

. Dans un deuxième temps, la surface du puits central est augmentée afin de tirer pleinement profit des dimensions utiles de la muqueuse sublinguale. Les caractéristiques définitives de cette nouvelle cellule sont les suivantes :

Diamètre du puits central (en cm)	Epaisseur du corps de la cellule (en cm)	Surfaces en cm ²		Volumes en cm ³	
		1 muqueuse	2 muqueuses	Réel	Admis
2	1.6	3.14	6.28	5.024	5

Toutefois une nouvelle difficulté apparaît : alors que pour des muqueuses de petite surface leur adhésion au support de plexiglas permet de les maintenir en place, pour des muqueuses plus étendues, donc plus lourdes, l'adhésion ne suffit plus à éviter leur glissement à l'intérieur du puits central, rendant très difficile l'application correcte des embouts B et C. Pour y remédier, nous avons décidé de fixer la membrane sur son support en plexiglas.

β) Fixation de la membrane

Douze pertuis de 1 mm de diamètre sont forés dans le corps A de la cellule, tout autour de la partie la plus centrale de la cuvette d'expansion, c'est-à-dire au ras du trottoir interne. Onze de ces pertuis transpercent le montage de part en part (ce qui en facilite le nettoyage). Le douzième correspond au tube T. ; il est donc peu profond, sous peine de perforation de ce tube.

Au moyen de petits "clous" en jonc d'acier inoxydable de 0.9 mm de diamètre, pénétrant dans chacun des pertuis, il est possible, en la transperçant à sa périphérie, d'étaler et de maintenir la muqueuse. Les têtes des "clous" prennent place dans la gouttière annulaire des embouts B et C.

Cette amélioration est nette, mais non satisfaisante. En effet, par suite de la rétraction élastique de la membrane, les premiers "clous" sont, à la pose des derniers, extirpés de leurs pertuis.

. Nous avons alors imaginé de les solidariser à l'aide d'un anneau pouvant s'insérer dans la cuvette d'expansion comprise entre A et B (ou A et C). L'appareil obtenu peut être appliqué sur la muqueuse disséquée, la maintenir et, enfin, la transporter sur le corps A de la cellule d'incubation. La mobilité du système permet l'appellation de "PORTOIR" que nous lui donnons (Figures 8 et 9).

. Nous détaillerons maintenant la technique de réalisation des portoirs, et leur mode d'utilisation.

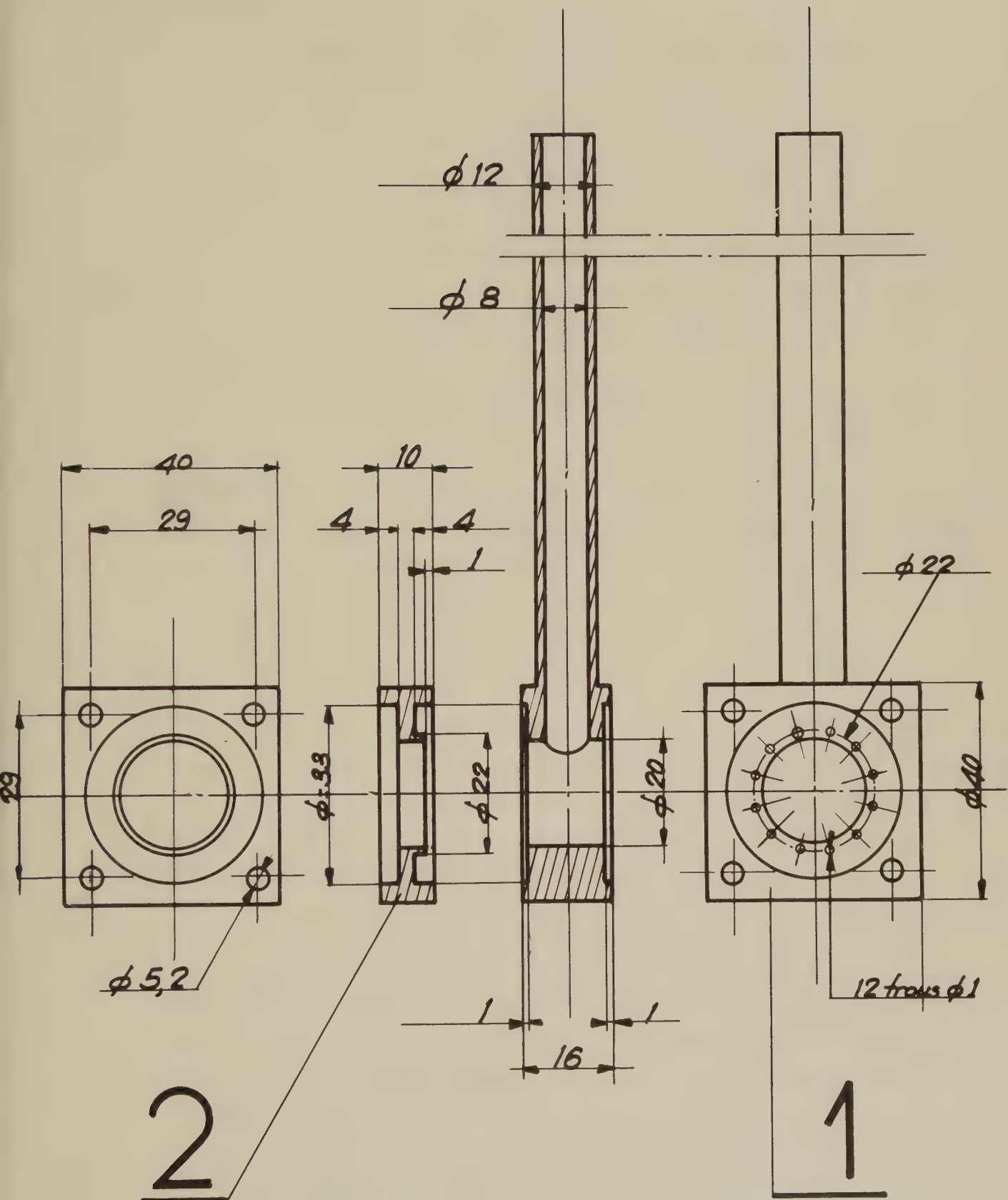


Figure 7 - NOUVELLE CELLULE OBTENUE APRES MODIFICATIONS DU MODELE
DECRIE FIGURE 6

La confection de chaque instrument comporte deux étapes :

- . La première n'est autre que celle décrite ci-dessus, à la différence, cependant, que l'extrémité qui correspond à la tête du clou, conservée plus longue, est coudée à angle droit, aplatie, et meulée afin de ne pas excéder 3 millimètres ; l'autre extrémité, apicale, est sectionnée à 7 millimètres pour les clous allant dans les pertuis qui traversent de part en part le corps A, et à 4 millimètres pour celui situé en regard du tube T. Dans la suite de notre exposé, ces clous sont cités sous l'appellation de "griffes".

Ces griffes, acérées à l'aide de meulettes et de limes fines, sont repérées.

- . La deuxième étape consiste à façonner un anneau circulaire, en demi-jonc d'acier, qui, après soudure à ses extrémités, est meulé afin d'obtenir les cotes suivantes (en millimètres) :

diamètre extérieur	:	30
diamètre intérieur	:	25
épaisseur	:	2

ce qui lui permet d'être placé librement dans la gouttière annulaire réservée à cet effet dans le corps A de la cellule d'incubation. In situ, il se trouve à la périphérie des pertuis ; les griffes, précédemment repérées, sont replacées dans leurs pertuis respectifs, leur fraction aplatie s'appuyant sur la partie supérieure de l'anneau ; l'ensemble anneau - griffe est collé, retiré du plexiglas, mis en revêtement spécial tel que nous le réalisons en prothèses buccales, et traité d'après la technique de la "cire perdue". Chaque tête de griffe est ensuite soudée sur l'anneau (°). Après polissage, l'épaisseur entre l'anneau et la partie supérieure des griffes est d'environ 2,5 millimètres ; cette surépaisseur est absorbée par la gouttière prévue à cet effet, dans chaque embout B et C correspondant.

(°) Cette technique est difficile. Nous avons tenté de la simplifier par coulée de l'ensemble anneau - griffes. Le résultat est négatif, car, malgré une centrifugation rapide, le métal en fusion n'aboutit pas toujours à l'extrémité des griffes. Nous préférons la mise au point manuelle, très délicate, mais plus précise.

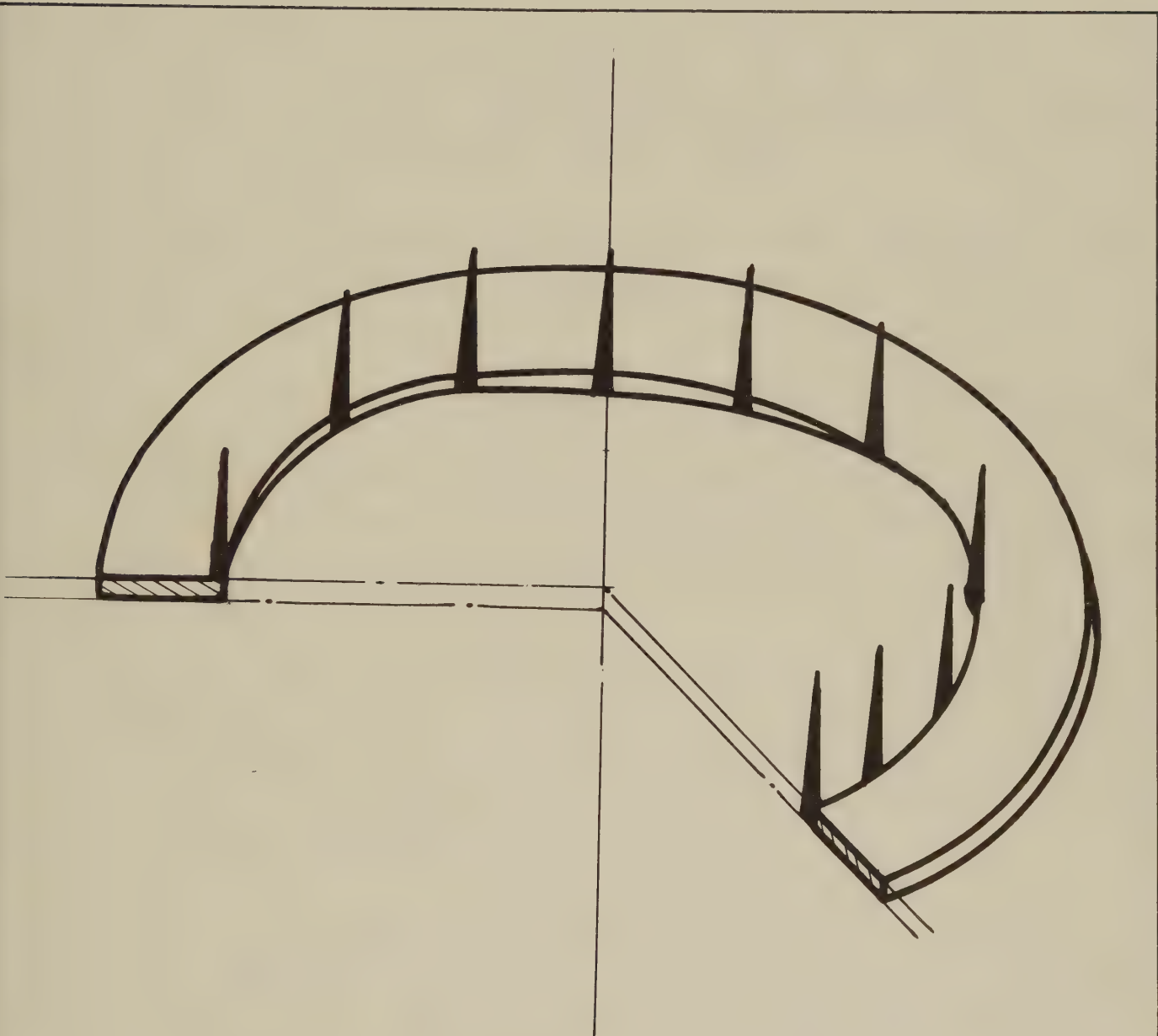


Figure 8 - SCHEMA D'UN PORTOIR

L'utilisation du portoir intervient après le retournement de la muqueuse (2 - B - 4).

- . Dans un premier temps, l'instrument est positionné sur la membrane, sa griffe la plus courte (repère important de standardisation) est placée au-dessus du lambeau restant du frein sublingual.
- . Dans un deuxième temps, il est pressé verticalement sur son support (°) ; les griffes transpercent la membrane qui, ainsi fixée et maintenue, ne peut ni glisser, ni se rétracter.

Après retrait des épingles, les lambeaux périphériques superflus sont éliminés (°°). La zone génienne, plus rétractile et moins bien fixée du fait de la griffe courte qui lui correspond, est débridée plus distalement. L'essentiel est que, après résection, il persiste une collerette membranaire externe dont l'expansion assure l'étanchéité du système lors du serrage à venir des embouts B et C sur le corps A de la cellule.

Le montage est désuni du liège par introduction successive d'une fine spatule mousse dans chaque espace qui sépare deux griffes. Ainsi libéré, il est immergé dans la solution de KREBS - HENSELEIT (glc) en attente d'un deuxième montage identique, puisque deux membranes sont nécessaires pour une même unité expérimentale.

Chaque portoir, supportant sa muqueuse, est alors placé sur sa face correspondante du corps A de la cellule ; l'embout B, muni de 4 boulons, est plaqué sur A ; l'embout C est plaqué sur l'autre face de A, en regard des boulons de B ; les écrous fixant l'ensemble sont serrés, en diagonale, sans blocage excessif.

(°) Le liège aggloméré est proscrit. Il est dur et émousse l'extrémité des griffes. Nous éliminons aussi les supports en plastique expansé, car ils épongent les solutions, et n'offrent pas assez de résistance à la pénétration des griffes.

(°°) A l'aide de ciseaux - éviter le scalpel.

Le puits central de la cellule reçoit une quantité de solution de KREBS - HENSELEIT (glc) égale à sa capacité, soit 5 ml.

Le dispositif est enfin immergé dans la solution à étudier, délivrée dans une cuve d'incubation (figure 10) dont la mise au point est décrite au paragraphe suivant :

GEOMETRIE D'UNE CUVE ET D'UN COUVERCLE ADAPTES A LA NOUVELLE CELLULE

Le faible volume du dispositif expérimental de BUCLON - BOURDIER permet son immersion dans un bécher de petit diamètre contenant une quantité minime et suffisante de liquide d'incubation. Les dimensions de notre cellule carrée posent un problème nouveau : elles contraignent à l'emploi de béchers de 50 mm de diamètre, ce qui nécessite 75 ml de solution par unité étudiée. Si l'on veut maintenir la radioactivité spécifique à un niveau suffisant, le coût de la manipulation augmente considérablement.

Pour obvier à cet inconvénient, nous avons été conduit à adapter un dispositif de géométrie différente qui permet, non seulement de conserver, mais encore d'améliorer la radioactivité spécifique par rapport au montage de BUCLON - BOURDIER.

Toujours réalisé en plexiglas, il comporte une cuve et un couvercle.

. LA CUVE (figure 10)

Elle est de section rectangulaire. Ses parties externes sont débordantes, ce qui en augmente la stabilité. Ses dimensions intérieures sont, en millimètres :

Longueur	470
Largeur	420
Hauteur	750

Le volume mort peut encore être diminué ; en effet, le dépassement des têtes des boulons et de leurs écrous nécessite 4 millimètres de part et d'autre, dans le sens de la longueur. Cet espace perdu entre la cellule d'incubation et la paroi de la cuve est comblé par l'adjonction de 2 plaques verticales collées sur les parois de celle-ci. Leur largeur est de 16 mm, leur épaisseur de 4 mm ; utilisées sur 35 mm de hauteur. Elles permettent de compenser un volume de

$$16 \text{ mm} \times 4 \text{ mm} \times 35 \text{ mm} (\times 2) = 4480 \text{ mm}^3, \text{ soit } 4.48 \text{ ml}.$$

Enfin, dans le sens de la hauteur, le fond de la cuve présente un profil arrondi. Afin que le contact cellule - cuve soit plus intime, les arêtes inférieures correspondantes de la cellule sont modelées à la demande.

Ce deuxième gain volumétrique est voisin de 1.5 ml.

Sur ce montage définitif nous déterminons le volume idéal de liquide d'incubation à adopter :

Pour une hauteur de 35 mm :

- . 19 ml sont insuffisants
 - . 20 ml sont excédentaires
- nous choisissons 19.5 ml

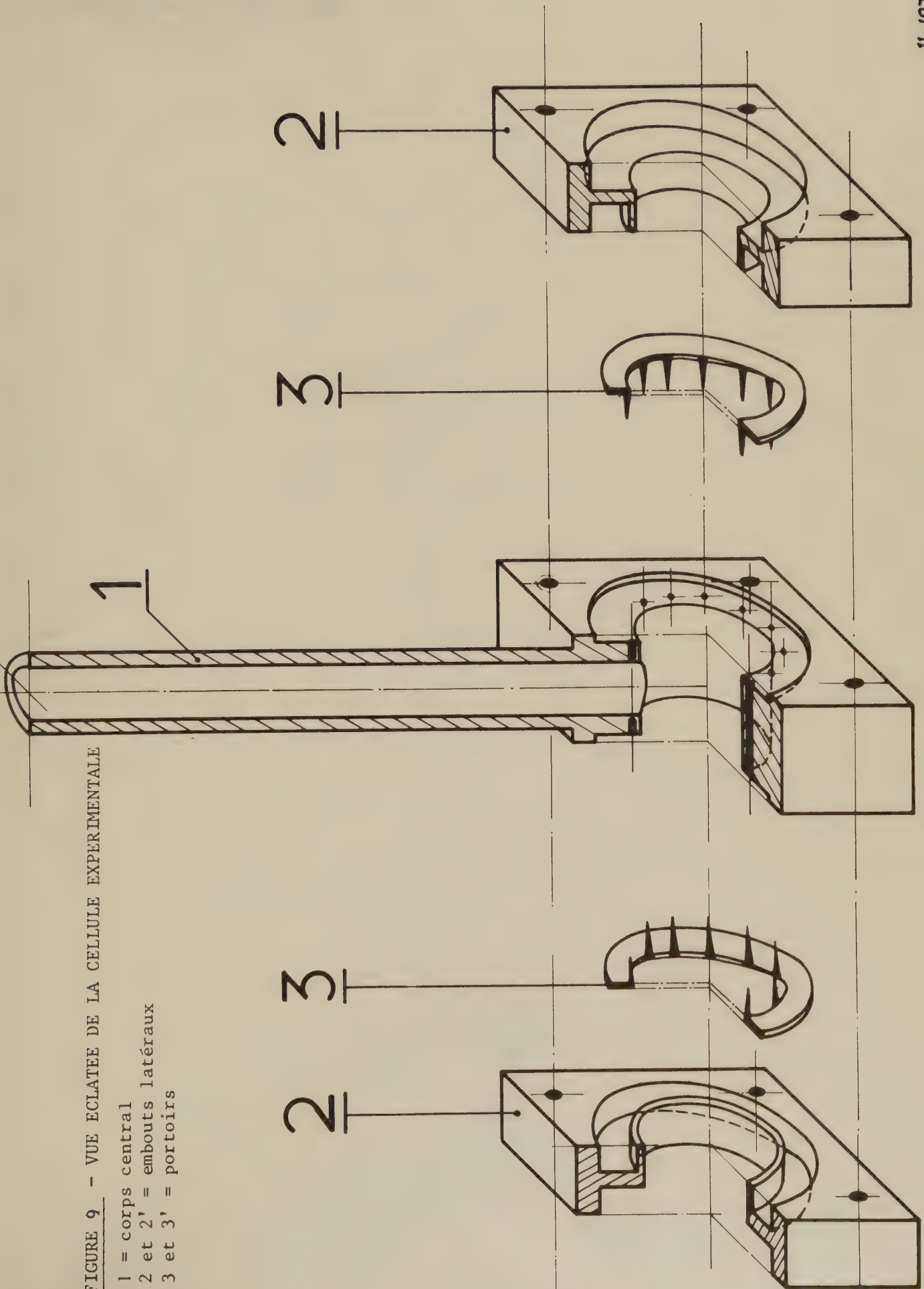
. LE COUVERCLE (figure 10)

Une expérience conduite pendant 2 heures à 38° C implique une évaporation non négligeable. La fuite du milieu d'incubation accrue du fait de l'agitation, augmente la concentration des substances dissoutes ; cette augmentation est d'autant plus sensible que la quantité du milieu utilisé (19.5 ml) est minime.

Pour remédier à cette perte, nous avons mis au point un couvercle formé d'un plateau carré de 60 mm de côté. Sa face inférieure reçoit, en regard des faces opposées de la cuve, deux lames rectangulaires de plexiglas s'emboîtant dans le pourtour débordant de celle-ci. Le plateau, foré en son centre d'un trou de 14 mm de diamètre, livre passage au tube T de la cellule (figure 11).

FIGURE 9 - VUE ECLATEE DE LA CELLULE EXPERIMENTALE

- 1 = corps central
- 2 et 2' = embouts latéraux
- 3 et 3' = portoirs



ORDRE de MONTAGE
1. 2. 3

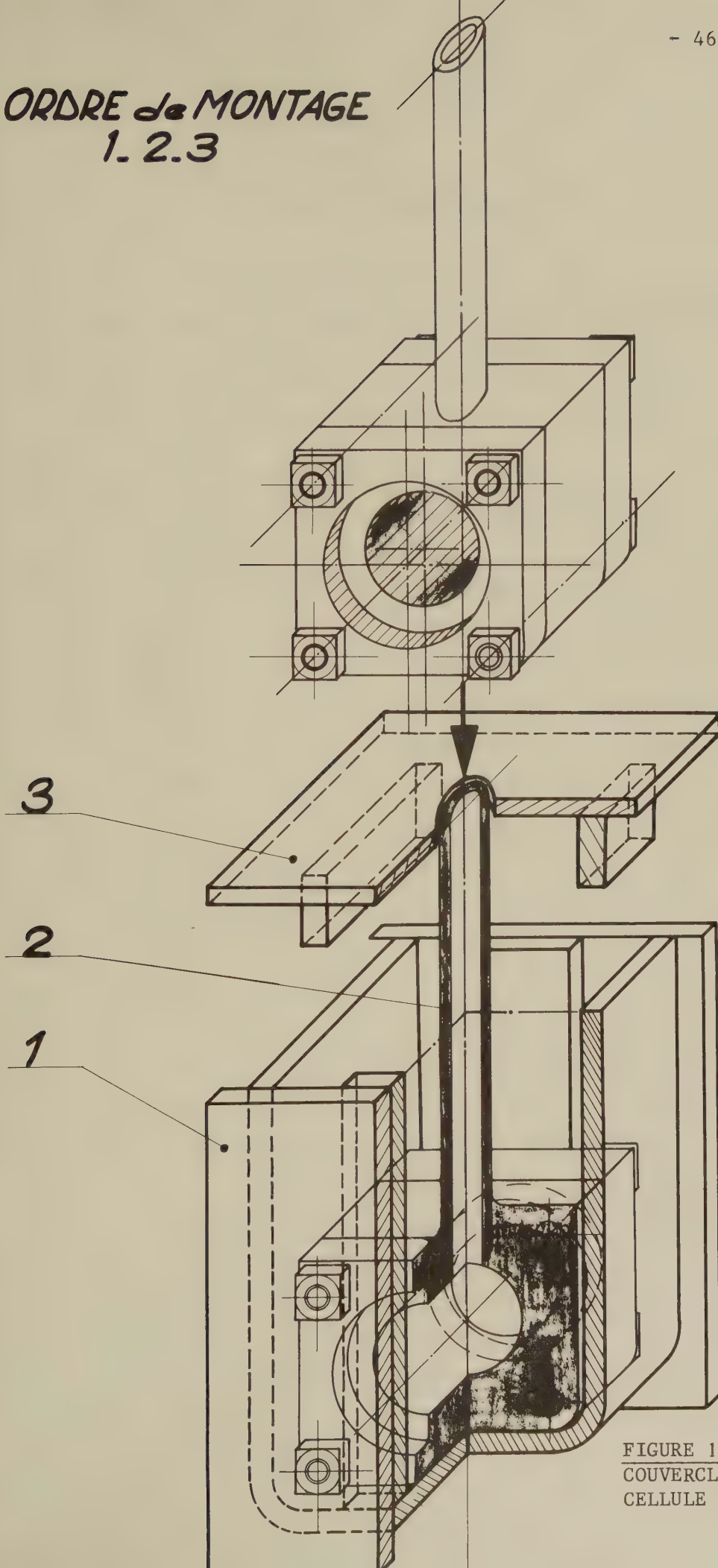


FIGURE 10 - CUVE (1), AVEC SON
COUVERCLE (3), RECEVANT LA
CELLULE EXPERIMENTALE (2)

2. L'enceinte thermostatée

Dans le cadre de nos expériences, nous avons employé deux méthodes pour maintenir la température constante, tout en agitant les milieux :

- . soit un bain-marie agité par un agitateur classique, réglé à 70 mouvements/minute, qui imprime un va-et-vient horizontal à la préparation,
- . soit un appareillage que nous avons réalisé, où le brassage est obtenu grâce à une circulation gazeuse, c'est-à-dire par turbulence.

Ce dispositif (Figure 11) est constitué de deux bacs emboîtés, I et II en polyéthylène, de mêmes formes mais de dimensions différentes dans tous les sens.

- L'espace libre entre les deux bacs, volontairement grand, est de 5 cm. Il est comblé par des fragments de liège, d'abord à sa partie inférieure puis au niveau des faces latérales. L'absence relative d'air, entre les grains du matériau, confère à l'ensemble une fiabilité thermique de 3 à 4 heures. Nos expériences ayant lieu pendant 2 heures, nous sommes assurés d'une marge de sécurité satisfaisante.

- Le bac intérieur

. il est partiellement rempli par 3.8 litres d'eau distillée. Ce volume important est choisi dans le même but que celui exposé pour le liège : plus le volume est grand, moins les variations thermiques seront sensibles au cours des manipulations.

. Un plateau horizontal s'insère dans son pourtour. Il est percé de divers orifices : trois d'entre eux, repérés 1-2-3, reçoivent 3 cuves expérimentales (ou 3 béchers de 70 mm de diamètre) - Les autres donnent accès à 1 dispositif chauffant (°) plongeant dans l'eau distillée, régulé par un thermostat, et aux entrées de 2 circuits d'air dont la description mérite un paragraphe à part :

(°) Bougie chauffante de PROLABO

Ce double apport gazeux est fourni par des compresseurs A et B.

- . Le Poste A alimente un tube rigide, obturé à l'une de ses extrémités par un bouchon, et foré d'une vingtaine de pertuis de 1 millimètre de diamètre orientés dans toutes les directions. Ce tube est immergé sous les cuves expérimentales. L'air pulsé par son intermédiaire entretient un brassage permanent et homogène du bain-marie.
- . le Poste B alimente les cuves contenant les solutions d'incubation dans lesquelles baignent les cellules expérimentales, ainsi qu'une cuve témoin, qui reçoit un thermomètre.

Ce deuxième montage est constitué d'un tuyau souple, enroulé autour du tube rigide du poste A (cet enroulement autorise une longueur de 50 à 60 centimètres). Il est réparti en autant de circuits secondaires qu'il y a de cuves. Chacun d'eux, dont le débit est réglé par une pince à vis, est muni à son extrémité d'un embout en porcelaine poreuse qui plonge dans la cuve correspondante où il entraîne la formation de micro-bulles d'air thermostaté.

Le poste B présente un triple intérêt puisqu'il permet une arrivée d'air ayant la même température que celle du bain-marie, une agitation du milieu d'incubation, et, au niveau de ce dernier, un apport permanent d'oxygène.

L'équilibre thermique des préparations liège - eau est long à obtenir. Il est indispensable de brancher les circuits électriques alimentant la bougie chauffante, et le poste A, 5 à 6 heures avant le début des manipulations. Nos prélèvements d'organes aux abattoirs étant faits très tôt, nous les branchons la veille.

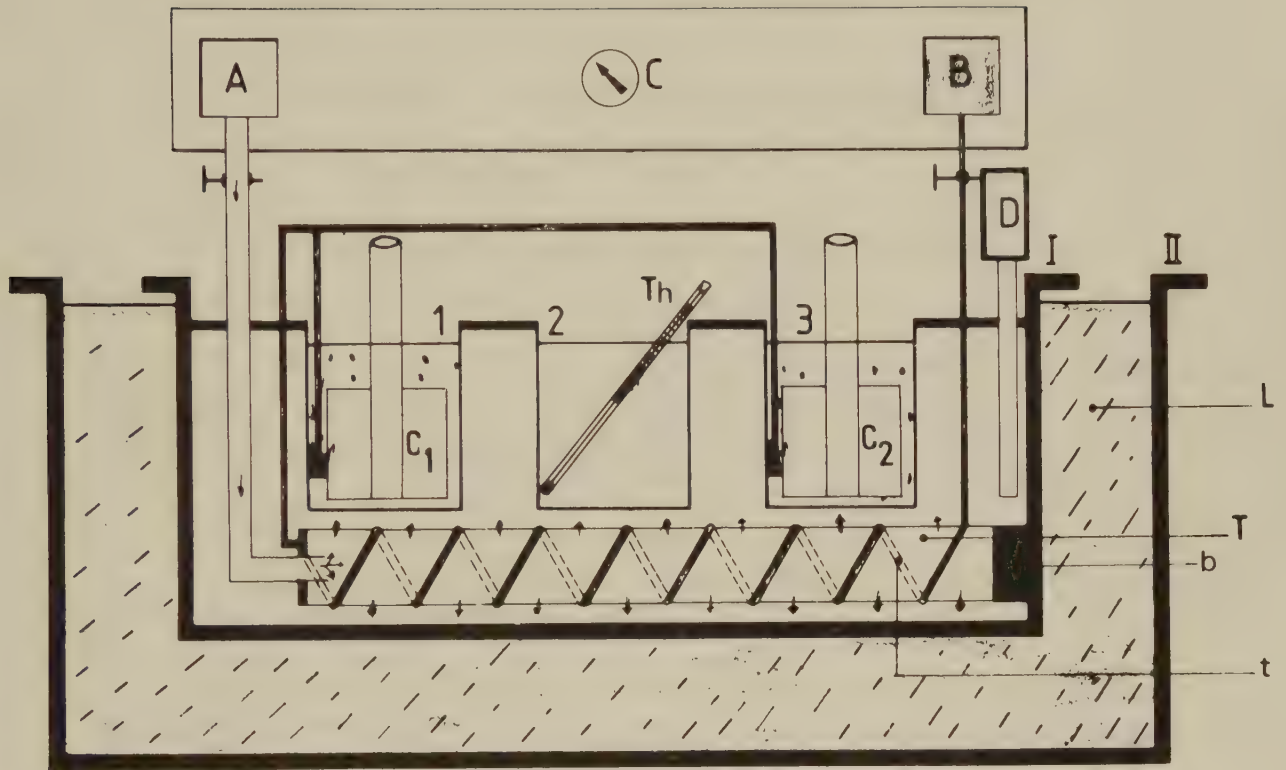


FIGURE 11 - ENCEINTE THERMOSTATEE A AGITATION PAR TURBULENCE

- I : BAC Intérieur
- II : BAC Extérieur
- A-B : Compresseurs d'air
- C : Thermostat
- D : Bougie chauffante
- L : Liège séparant les bacs I et II
- T : Tube rigide perforé muni de son bouchon b (Poste A)
- t : tuyau souple enroulé autour de T (Poste B)
- 1.2.3. : CUVES d'incubation
- Th : Thermomètre
- C₁.C₂ : CELLULES d'incubation

C. Montages électro-physiologiques

Deux types de montage ont été employés, et seront décrits successivement :

- . l'un utilise deux électrodes extra-cellulaires,
- . l'autre, une micro-électrode intra-cellulaire, et une électrode extra-cellulaire.

1. Dispositif à électrodes extra-cellulaires

a - Appareillage (Figure 12)

Nous avons repris le montage décrit par BUCLOM (en 1974). Il comporte :

- . d'une part une cellule en plexiglas à deux compartiments entre lesquels une préparation peut être montée à la manière d'une cloison et,
- . d'autre part, un ensemble d'appareils de mesures et de dispositifs de connexion.

Dans chaque compartiment plongent un pont d'agar (agar 2.5 % dans K Cl 3 M) et une électrode d'Ag chloruré.

- . les ponts d'agar sont reliés à un enregistreur potentiométrique par l'intermédiaire de deux électrodes au calomel. On peut ainsi mesurer la ddp entre les deux compartiments.
- . les électrodes d'Ag chloruré sont reliées à un générateur de courant continu qui, lorsqu'il débite, provoque des variations de la ddp. La connaissance du courant nécessaire pour faire varier la ddp, d'une quantité connue, permet de calculer la résistance du système séparant les deux ponts d'agar ; la comparaison des courants entraînant une même variation de ddp, en présence, et en l'absence de la membrane, permet de calculer la résistance propre de cette dernière.

Pour toutes valeurs correspondantes de la ddp transmurale, et de la résistance membranaire, on peut déterminer l'intensité du courant transmural, qui représente le paramètre-clé de la préparation.

b - Différents cas d'utilisation

a) Etude de la perméabilité d'une membrane aux ions :

- . la préparation étant baignée sur ses deux faces par du liquide physiologique, on détermine une intensité I de référence ;
- . ensuite, on modifie la composition ionique du milieu de part et d'autre de la membrane, et on note la nouvelle valeur de I ;
- . enfin, on revient aux conditions initiales physiologiques.

β) Etude de l'action d'une substance organique sur les mouvements ioniques transmuraux :

- . la préparation étant baignée sur ses deux faces par du liquide physiologique, on détermine une intensité I de référence ;
- . ensuite on ajoute dans le compartiment muqueux une substance organique, telle que acide aminé ou sucre ;
- . tout transfert actif de ces substances se traduit par une augmentation de I transmurale.

2. Dispositif à micro-électrode intra-cellulaire

a - Appareillage (Figure 13)

La cellule en plexiglas à deux compartiments est à nouveau utilisée. Une micro-électrode (°) de verre remplie de KCl 3 M est approchée obliquement de la surface muqueuse, puis empalée dans une cellule épithéliale (°°) à l'aide d'un micro-manipulateur. Une électrode de référence, constituée par un pont d'agar est placée dans l'un ou l'autre des compartiments. La micro-électrode et l'électrode de référence sont connectées à un enregistreur potentiométrique permettant de déterminer successivement les potentiels à travers la face apicale de la cellule, puis à travers la face basale.

(°) Les micro-électrodes de verre ont un diamètre de 0,5 à 1 μ et une résistance de 10 à 25 $M\Omega$.

(°°) Les dimensions des cellules épithéliales ne sont pas connues. L'expérience montre qu'elles supportent bien l'empalement des micro-électrodes.

b - Utilisation

Etude de la perméabilité aux ions des faces apicale et basale d'une cellule épithéliale :

- . la préparation étant baignée sur ses deux faces par du liquide physiologique, on détermine, par une série d'une dizaine d'empalements, une valeur moyenne des deux potentiels membranaires (la différence entre les deux représente la ddp transmurale obtenue par le dispositif à électrodes extra-cellulaires).
- . on modifie ensuite la composition ionique du milieu baignant l'une ou l'autre face de la préparation.
- . on effectue une nouvelle série de dix empalements.

Avant de passer d'une face à la suivante, on restabilise la préparation dans un milieu physiologique bilatéral.

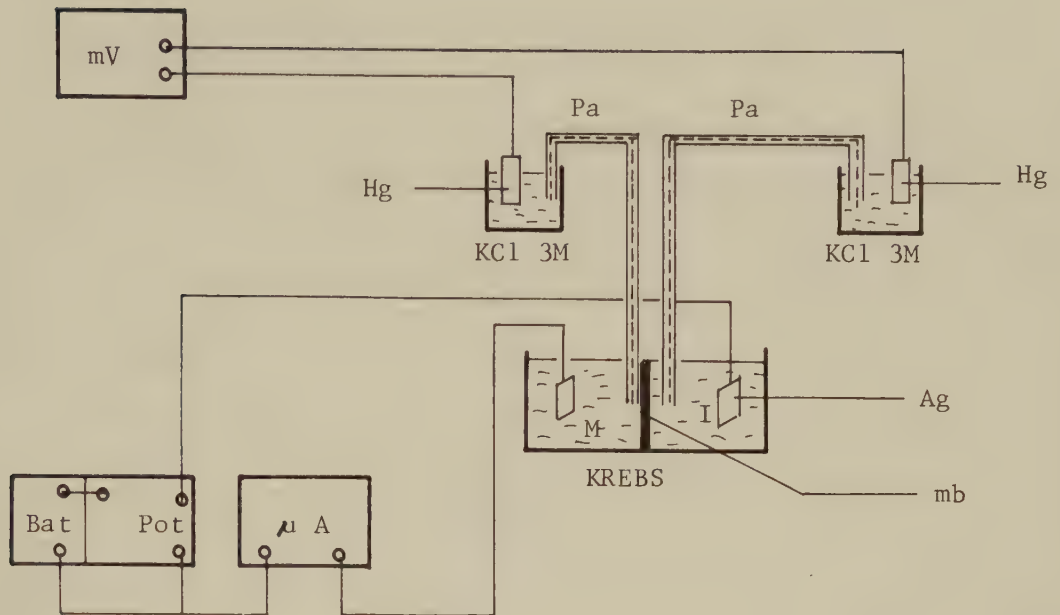


FIGURE 12 - DISPOSITIF A ELECTRODES EXTRA-CELLULAIRES

mV : millivoltmètre	Pa : Pont d'agar.
Hg : Electre au calomel	Ag : Electre d'argent chloruré
Bat: Batterie	Pot : Potentiomètre
μA : microampèremètre	mb : membrane
M : Milieu muqueux	I : Milieu Interne

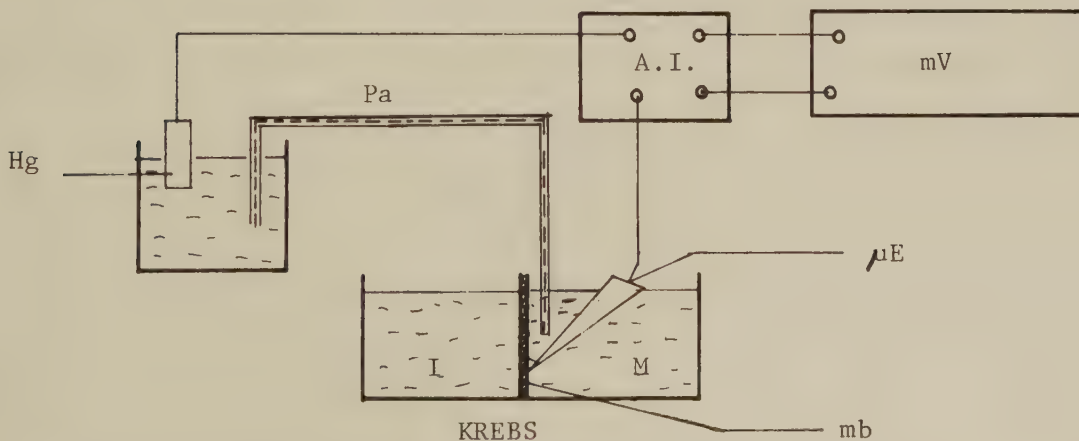


FIGURE 13 - DISPOSITIF A MICROELECTRODE INTRACELLULAIRE

mV : millivoltmètre	Pa : Pont d'agar
Hg : Electre au calomel	μE : microélectrode
A.I. : Adaptateur d'Impédance	mb : membrane
M : Milieu muqueux	I : Milieu Interne

D. Techniques d'analyse

1. Méthode chimique

Le dosage du glucose est effectué à l'aide de la méthode à l'anthrone (°). Nous employons le réactif de ROE (30).

a - Préparation du réactif de ROE

Anthrone	500 mg
Thiourée	10 g
H ₂ SO ₄	720 ml
H ₂ O distillée	280 ml

L'anthrone est dissout dans H₂ SO₄, la thiourée, dans de l'eau distillée. Les deux solutions sont mélangées lentement, en refroidissant le récipient.

Conservé à + 4° C, le réactif est utilisable pendant deux à trois semaines.

b - Préparation des échantillons à doser

Des parties aliquotes du liquide, contenu d'une part dans le puits central de la cellule, et, d'autre part dans la chambre muqueuse (milieu d'incubation), sont déféquées avec TCA 5 p.100 puis, après trente minutes de contact, additionnées d'eau distillée et filtrées sur papier.

- . Pour le liquide du puits central, 1 ml est additionné de 1 ml de TCA et de 8 ml d'eau distillée.
- . Pour le milieu d'incubation, 1 ml est additionné de 10 ml de TCA et de 89 ml d'eau distillée.

(°) Anthrone = 1.10 dihydro - 9 - oxoanthracène.

c - Protocole du dosage

. A 1 ml de filtrat, on ajoute 10 ml de réactif à l'anthrone. On porte à ébullition pendant quinze minutes, et l'on refroidit les solutions dans de l'eau glacée.

La lecture, au spectrophotomètre, est effectuée à 630 nanomètres.

. On traite parallèlement une gamme étalon contenant 100 - 250 - 500 et 1000 nanomoles/ml.

2. Méthode radio-active

Ces dosages concernent le GLUCOSE, le SACCHAROSE et le GLYCOCOLLE.

a - Préparation des échantillons à doser

. En fin d'incubation, 0.5 ml du liquide du puits central de la cellule sont recueillis dans une fiole jaugée de 5 ml, contenant 0.5 ml de TCA 5 p.100. Le contenu de la fiole est amené au trait de jauge avec de l'eau distillée. Après défécation, le milieu est filtré sur de petits filtres en papier, et 2 ml de filtrat sont versés dans un pot de comptage.

. De la même façon, on réalise un témoin du milieu d'incubation par dilution au 1/10 000 de la solution initiale.
Le milieu obtenu a la même composition en TCA et KREBS HENSELEIT (glc) que les échantillons du puits central. Trois prélèvements de 2 ml sont délivrés dans des pots de comptage.

b - Préparation du réactif de BRAY (31)

Naphtalène	100 g
P.P.O. (°)	10 g
Diméthyl P.O.P.O.P. (°°)	0.250 g
Dioxane	1 litre

(°) P.P.O. - 2.5 diphénylosazole

(°°) diméthyl P.O.P.O.P. = 1 - 4 bis - 2 (4 méthyl 5 - Phénylosazolyl) benzène.

c - Réalisation du dosage

a) Addition du réactif de BRAY : chaque témoin ou échantillon reçoit 8 ml de réactif.

β) Condition de comptage : on utilise un spectromètre à scintillation liquide PACKARD - TRICARB.

. Les réglages sont les suivants :

Fenêtre	50 à 1000
Gain	19 p. 100
Réfrigération	10° C

. Les pots sont comptés pendant dix minutes, à trois reprises. Le chiffre retenu est la moyenne des trois résultats.

. Le nombre de coups est de 500 à 2000 pour un bruit de fond de 200.

γ) Exploitation des résultats

La quantité de sucre, ou d'acide aminé, apportée sous forme radioactive est négligeable eu égard de la quantité de substance froide correspondante. On considèrera donc que tous les milieux d'incubation contiennent 30 m M/litre, soit 30 000 nanomoles par ml.

. Les témoins d'incubation, après dilution à 1/10 000, contiennent 3 m M/ml, soit 6 nanomoles dans un pot de comptage.

. Les échantillons de liquide du puits central de la cellule ne contiennent que les 2/5 du prélèvement initial ; qui ne représente lui-même que le 1/10 du contenu total (estimé à 5 ml ; ce qui correspond au volume initial).

- En conséquence, la quantité de radio-activité correspondante doit être multipliée par 25.

Si l'on désigne par :

- . T le nombre moyen de coups comptés dans les Témoins,
- . E le nombre de coups comptés dans un Echantillon de liquide du puits central de la cellule,
- . la quantité Q de substance ayant effectivement traversé la muqueuse est donnée, en nanomoles, par la formule suivante :

$$Q = \frac{6 \times E \times 25}{T}$$

TROISIEME CHAPITRE
RESULTATS

I. Résultats histologiques

I. INTRODUCTION

De nombreux travaux histologiques ont été faits sur les muqueuses de la cavité buccale de l'HOMME. Par contre, à notre connaissance, les résultats obtenus chez l'animal sont limités.

Du fait que nous utilisons des muqueuses sublinguales de Porc et de Mouton, il nous a paru nécessaire d'en faire une étude approfondie.

A. LOCALISATION DES PRELEVEMENTS

Les résultats que nous rapportons pour les deux espèces animales considérées sont obtenus à partir de prélèvements effectués dans les régions antéro-médiane et ventro-latérales.

Les muqueuses sont saines et ne présentent aucune lésion à l'examen macroscopique.

B. RESULTATS

1. PORC

a - Muqueuse sublinguale antéro-médiane

- . Un premier examen à grossissement moyen (figure 14) permet de constater que la muqueuse qui tapisse la face supérieure de l'espace sublingual ne repose pas sur un plan musculaire,
- . L'utilisation de plus forts grossissements (figures 15 et 16) confirme que :
L'épithélium est pluristratifié, pavimenteux, et que sa surface profonde est sinueuse ; il comprend plusieurs couches :
 - . l'une, basale, germinative (stratum germinativum) est formée d'une assise de cellules cubiques ou cylindriques ;
 - . l'autre, spinocellulaire (stratum spinosum) comporte plusieurs assises de cellules polyédriques réunies par des filaments unitifs dits "ponts intercellulaires" qui lui confèrent de la résistance aux pressions verticales et tangentielles ;
 - . enfin une couche pavimenteuse, desquamante, non kératinisée termine l'ensemble.

Le Chorion, est subdivisé en deux parties :

- . une couche papillaire, constituée d'un tissu conjonctif délicat

richement vascularisé, contenant quelques leucocytes,
- une zone sous-jacente, formée d'un tissu conjonctif fibreux.

b - Muqueuse sublinguale ventro-latérale

Les prélèvements sont réalisés dans le tiers postérieur de la zone ventrale. Les coupes sont faites selon un plan perpendiculaire à la surface de l'organe.

Les microphotographies montrent que les structures épithéliales et conjonctives sont les mêmes que dans la partie médiane. On observe notamment l'absence de kératine dans les régions les plus ventrales, alors qu'une couche de kérato-myalisation apparaît progressivement lorsqu'on s'approche de la face dorsale de la langue (figure 17).

2. MOUTON

Les coupes sont réalisées dans les mêmes régions anatomiques que celles décrites pour le porc. On ne voit pas de différences histologiques fondamentales (figures 18 et 19).

C. CONCLUSION

Les diverses muqueuses que nous avons examinées sont constituées par un épithélium épidermoïde reposant sur un chorion conjonctif ;

Que leur origine soit médiane ou latérale, les coupes confirment que les prélèvements n'ont intéressé que la muqueuse ;

Il en résulte que dans nos expériences de perméabilité, nous avons l'assurance de travailler sur des muqueuses pures et bien individualisées.



FIGURE 14 - MUQUEUSE SUBLINGUALE ANTERO-MEDIANE DE PORC (G x 100)



FIGURE 15 - Idem Figure 14
(G x 250)

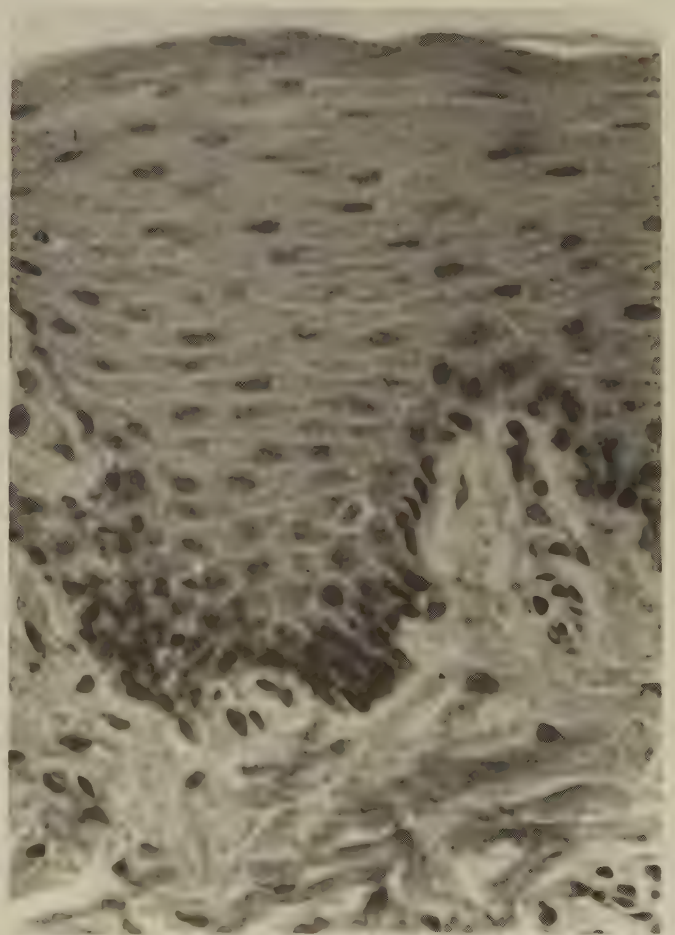


FIGURE 16 - Idem Figure 14
(G x 400)

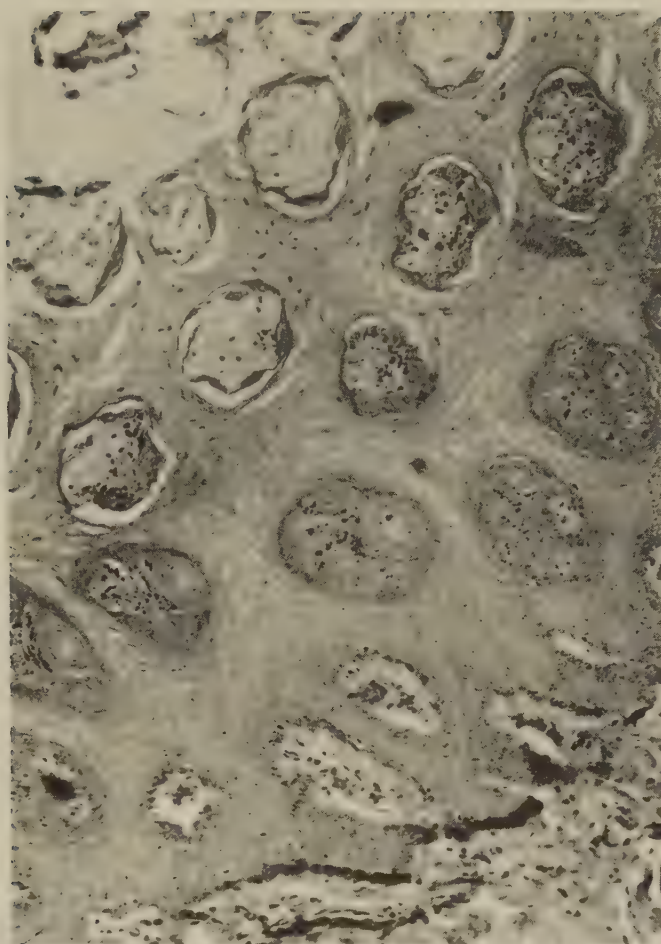


FIGURE 17 - ZONE DE TRANSITION ENTRE LA MUQUEUSE
SUBLINGUALE VENTRO-LATERALE ET LA FACE
DORSALE DE LA LANGUE.
PORC. (G x 150) - Noter l'apparition
de kératine.

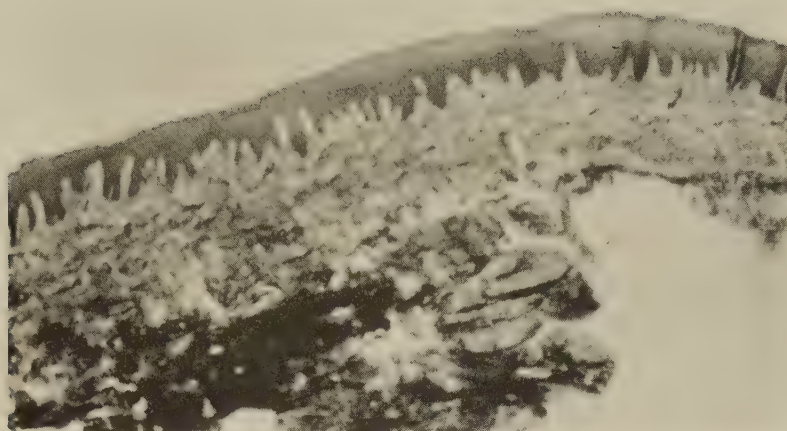


FIGURE 18 - MUQUEUSE SUBLINGUALE DE MOUTON (G x 25)

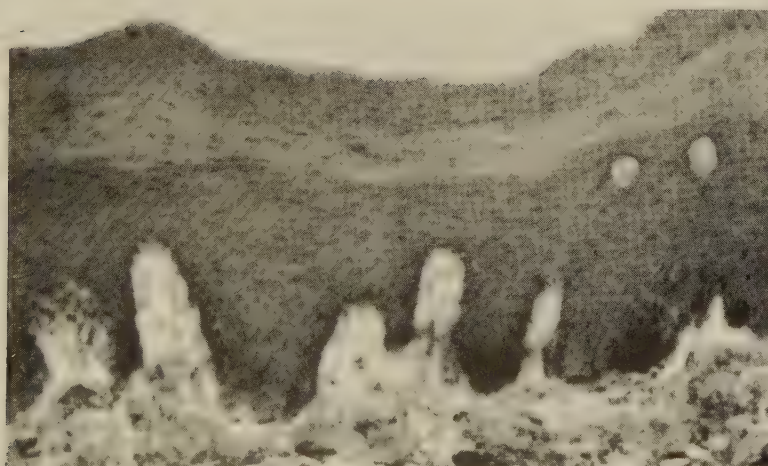


FIGURE 19 - Idem Figure 18 (G x 100)

II. Evaluation quantitative du transport de deux glucides
simples (le glucose et le saccharose) à travers la
muqueuse sublinguale du porc

A. INTRODUCTION

Dans ce chapitre sont réunies différentes expériences permettant d'apprécier l'intensité du transfert de molécules glucidiques simples à travers la muqueuse sublinguale du porc.

. La plupart des résultats sont obtenus avec le glucose, ce qui se justifie par le fait que cette molécule est largement répandue dans l'organisme des mammifères, à concentration fixe.

. Le saccharose est utilisé à titre comparatif.

B. CONDITIONS EXPERIMENTALES

. Les prélèvements de muqueuse sont localisés, sauf mention contraire, dans la zone antéro-médiane de la région sublinguale. Ils sont montés sur la cellule décrite précédemment (Figures 7 et 9).

Les sucres sont placés du côté muqueux, à la concentration de 30 mM/l dans du liquide de KREBS HENSELEIT (glc) ;

quand un dosage radio-actif est envisagé, le milieu muqueux est additionné d'une quantité négligeable de substance uniformément marquée au ^{14}C , de telle façon que la solution présente une radio-activité de $0.5 \mu\text{Ci/ml}$.

- . Les échantillons du liquide contenu dans le puits central sont prélevés, sauf mention contraire, après deux heures d'incubation à 38°C .
- . Les dosages sont effectués, selon les cas :
 - soit par méthode chimique, par le réactif de ROE (30),
 - soit par scintillation liquide (cas général).

C. RESULTATS

- . Nous examinerons d'abord les résultats obtenus avec le glucose, en fonction de la méthode analytique utilisée,
- . puis nous comparerons les transferts observés avec ceux obtenus avec le saccharose radio-actif,

- . Nous envisagerons ensuite l'influence de différents facteurs sur l'intensité du transport du glucose, concernant principalement :
 - . le milieu d'incubation :
 - addition d'un inhibiteur,
 - addition d'un facteur de diffusion,
 - abaissement de la température ;
 - . les animaux :
 - sexe,
 - provenance ;
 - . le prélèvement tissulaire :
 - utilisation d'une zone sublinguale ventro-latérale.

1 - Expérience de référence concernant le transport du glucose

Selon que l'on utilise, pour le dosage de la quantité apparemment transportée, une méthode chimique, ou une méthode radio-active, les résultats sont totalement différents (Tableaux I et II). La raison en est que la méthode chimique dose les sucres réducteurs totaux de manière non spécifique, tandis que la méthode radio-active dose sélectivement le glucose provenant du milieu muqueux. Il est raisonnable de concevoir qu'au cours de l'expérience, il se produit une libération, dans le milieu d'incubation, de substances diverses, parmi lesquelles un certain nombre est susceptible de réagir avec l'anthrone. En conséquence, toutes les expériences ultérieures seront réalisées avec un sucre marqué, que l'on dosera par scintillation liquide.

On remarquera, dès maintenant, que le transport du glucose est extrêmement faible : 6,3 nanomoles représentent environ 1 microgramme (Tableau II).

2 - Transport du saccharose

Le nombre de moles transporté (Tableau III) est voisin de celui observé avec le glucose.

Un calcul statistique montre que la différence entre les deux sucres n'est pas significative (Tableau IV).

TABLEAU I

Transfert du glucose : dosage chimique, muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C

(M = Mâles ; F = Femelles ; A = Allier ; B = Belges)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
1	M	B	890	141,7
2	F	B	3 340	531,9
3	F	B	2 230	355,1
4	F	A	2 279	362,9
5	F	A	1 887	300,5
6	M	A	1 913	304,6
7	M	A	2 967	472,4
8	M	A	1 972	324,0
9	F	A	1 416	225,5
Totaux	4 M 5 F	3 B 6 A	18 894	3 008,6
Moyennes			2 099	334,8 $\pm$ 39,0

TABLEAU II

Transfert du glucose : dosage radioactif, muqueuse antéro-médiane, 38° C

(désigné ultérieurement par glucose I)

(M = Mâles ; F = Femelles ; A = Allier ; B = Belges)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
10	M	A	47,6	7,6
11	M	A	19,1	3,0
12	F	A	47,5	7,6
13	F	B	33,6	5,4
14	F	B	45,7	7,3
15	M	A	22,8	3,6
16	M	A	61,5	9,8
Totaux	4 M 3 F	5 A 2 B	277,8	44,3
Moyennes			39,7	6,3 $\pm$ 0,9

TABLEAU III

Transfert du saccharose : dosage radioactif, muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C.

(M = Mâles ; F = Femelles ; A = Allier ; B = Belges)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
17	M	B	42,1	6,7
18	F	B	28,7	4,6
19	F	B	53,9	8,6
20	M	A	71,8	11,4
21	M	A	50,9	8,1
22	M	B	15,4	2,5
23	M	B	19,7	3,1
Totaux	5 M 2 F	2 A 5 B	282,5	45,0
Moyennes			49,2	7,8 $\pm$ 1,8

TABLEAU IV

Comparaison entre les transferts du glucose et du saccharose, déterminés par dosages radioactifs - muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C.

SUCRES	TRANSFERT par cm2 en nanomoles	Comparaison des moyennes
Glucose	6,3 $\pm$ 0,9 (n = 7)	t = 0,75
Saccharose	7,8 $\pm$ 1,8 (n = 7)	

3 - Addition d'un inhibiteur au milieu d'incubation

- 1) Le phloridzozide est un hétéroside connu pour inhiber sélectivement le transport actif des sucres, à une concentration insuffisante pour agir sur le métabolisme cellulaire.
- 2) Il a été montré que cette substance intervient par inhibition compétitive au niveau des sites de transport des sucres, son affinité pour ces derniers étant très élevée.
- 3) On constate, qu'ajouté à la concentration de 10^{-3} M/litre du côté muqueux de la préparation sublinguale, le phloridzozide ne modifie pas l'intensité du transport du glucose (Tableaux V et VI).

4 - Addition d'un facteur de diffusion au milieu d'incubation

La Thiomucase (Tableau VII) est un enzyme capable de dépolymériser les glucoprotéines. Elle est utilisée en particulier pour faciliter la pénétration de médicaments injectés par voie intra-musculaire.

Ici, la substance est ajoutée simultanément dans les milieux baignant les deux faces de la préparation, à la concentration de 0.67 T.R.U./ml.

Il apparaît une légère augmentation de transfert du glucose (Tableau VII), mais le calcul statistique montre que la différence n'est pas significative (Tableau VIII).

TABLEAU V

Transfert de glucose 14 C avec phloridzose, muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C

(M = Mâles ; F = Femelles ; A = Allier ; B = Belges)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
24	M	A	42,3	6,7
25	M	A	41,7	6,6
26	F	A	34,8	5,5
27	F	B	56,3	9,0
28	F	B	37,5	6,0
29	M	A	26,9	4,3
Totaux	3 M 3 F	4 A 2 B	239,5	38,1
Moyennes			40,0	6,4 $\pm$ 0,6

TABLEAU VI

Comparaison Glucose I et phloridzose - muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C.

EXPERIENCES	Transfert nanomoles / cm2	Comparaison des moyennes
Témoin	6,3 $\pm$ 0,9 (n = 7)	t $\neq$ 0
Inhibiteur	6,4 $\pm$ 0,6 (n = 6)	

TABLEAU VII

Transfert du glucose 14 C + thiomucase, muqueuse sublinguale, antéro-médiane de porc, 38° C

(M = Mâles ; F = Femelles ; A = Allier ; B = Belges)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
30	M	A	12,9	2,0
31	F	A	19,8	3,1
32	F	A	17,1	2,7
33	M	A	39,7	6,3
34	M	A	36,6	5,8
35	F	A	32,2	5,1
36	F	B	30,5	4,9
37	F	B	73,0	11,8
38	M	B	82,1	13,1
39	M	A	32,1	5,1
40	F	A	79,0	12,9
41	M	A	82,3	13,1
42	M	A	102,7	16,3
43	F	A	18,1	2,8
44	F	A	67,3	10,7
45	F	B	73,2	11,6
46	F	B	22,4	3,6
47	M	B	60,4	9,6
Totaux	8 M 10 F	12 A 6 B	881,4	140,5
Moyennes			48,9	7,8 $\pm$ 0,8

TABLEAU VIII

Comparaison entre glucose I et glucose + thiomucase, muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C.

EXPERIENCES	Transfert nanomoles / cm2	Comparaison des moyennes
Témoin	6,3 $\pm$ 0,9 (n = 7)	t = 1,27
Thiomucase	7,8 $\pm$ 0,8 (n = 18)	

5 - Influence d'un abaissement de température du milieu d'incubation

. Cette expérience, ainsi que les suivantes, a été effectuée un an après celles qui viennent d'être décrites. Il a donc été jugé nécessaire de réaliser une nouvelle série de témoins. Devant le manque d'homogénéité des valeurs obtenues, nous avons été conduit à faire 19 expériences (Tableau IX).

. Il apparaît que la moyenne de transfert du glucose est très sensiblement supérieure à celle observée un an plus tôt, la différence étant même statistiquement significative (Tableau X). Après étude comparative des méthodes utilisées nous pouvons admettre que cet écart est dû à une légère modification de dissection des prélèvements muqueux. C'est par rapport à ce nouveau témoin que l'effet de la température a été testé.

Lorsqu'on abaisse la température de 38° C à 34° C, on note une diminution de transfert de 24 p. 100 (Tableau XI). En extrapolant à une variation de 10° C, on obtient un Q 10 de 1,81 (Tableau XII).

6 - Influence du sexe des animaux

La série témoin II (Tableau IX) ayant été réalisée à partir d'animaux des deux sexes, et provenant indifféremment de deux régions de production (Allier et Belgique), il nous a paru intéressant de redistribuer les résultats en fonction du sexe et de la provenance, afin d'en expliquer, éventuellement, la dispersion (Tableau XIII).

En ce qui concerne les sexes, la différence des intensités de transfert est infime et non significative (Tableau XIV).

7 - Influence de la provenance des animaux

A partir du même Tableau XIII, on constate une différence des résultats obtenus entre les animaux provenant de l'Allier, et ceux originaires de Belgique.

Cependant, la différence entre les deux catégories n'est pas significative ($t = 1,16$) (Tableau XV).

8 - Importance de la zone de prélèvement tissulaire

Une série de prélèvements réalisée dans la région ventro-latérale a montré que le transfert est nettement supérieur à celui observé dans la partie antéro-médiane (Tableau XVI).

La différence entre les deux séries est hautement significative ($t = 6.71$ *) (Tableau XVII).

Nous la tenons pour très importante.

TABLEAU IX

Glucose II témoin - muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C
(M = Mâles ; F = Femelles ; A = Allier ; B = Belges)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
48	M	A	99,7	15,8
49	M	B	28,2	4,5
50	M	A	85,5	13,6
51	M	B	28,0	4,5
52	M	B	136,0	21,7
53	F	B	20,8	3,3
54	M	B	27,9	4,4
55	M	B	128,1	20,4
56	F	B	135,5	21,6
57	M	A	20,2	3,2
58	F	A	35,6	5,7
59	F	B	142,0	22,6
60	F	B	138,0	22,0
61	F	B	27,4	4,4
62	F	B	28,1	4,5
63	M	B	131,6	21,0
64	M	A	101,0	16,1
65	M	A	18,2	2,9
66	F	A	29,5	4,7
Totaux	11 M 8 F	7 A 12 B	1 361,3	216,9
Moyennes			71,6	11,4 $\pm$ 1,9

TABLEAU X

Comparaison de glucose I et glucose II, muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C.

SERIES	Transfert en nanomoles / cm2	Comparaison des moyennes
Glucose I	6,3 $\pm$ 0,9 (n = 7)	t = 2,43 (*)
Glucose II	11,4 $\pm$ 1,9 (n = 19)	

TABLEAU XI

Transfert du glucose 14 C, muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 34° C.

(M = Mâles ; F = Femelles ; A = Allier ; B = Belges)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
67	F	A	34,8	5,5
68	F	A	73,0	11,6
69	F	A	143,0	22,8
70	F	A	42,9	6,8
71	F	A	38,5	6,1
72	M	A	35,6	5,7
73	M	A	70,3	11,2
74	M	A	35,9	5,7
75	M	A	47,7	7,6
76	F	A	45,6	7,3
77	F	A	33,3	5,3
78	F	B	33,0	5,3
79	M	B	55,0	8,8
80	F	B	69,3	11,0
Totaux	5 M 9 F	11 A 3 B	757,9	120,7
Moyennes			54,1	$8,6 \pm 1,0$

TABLEAU XII

Q 10 Glucose II

$$\frac{8,6 + 2,8 \times \frac{10}{4}}{8,6} = 1,81$$

TABLEAU XIII

Redistribution du TABLEAU IX en fonction des sexes (TABLEAU XIV) et des provenances (TABLEAU XV)

(Glucose II témoin, muqueuse sublinguale antéro-médiane, porc, 38° C)

Porc N°	Transfert - en nanomoles par cm2			
	Sexe		Provenance	
	Males	Femelles	Allier	Belge
48	15,8		15,8	
49	4,5			4,5
50	13,6		13,6	
51	4,5			4,5
52	21,7			21,7
53		3,3		3,3
54	4,4			4,4
55	20,4			20,4
56		21,6		21,6
57	3,2		3,2	
58		5,7	5,7	
59		22,6		22,6
60		22,0		22,0
61		4,4		4,4
62		4,5		4,5
63	21,0			21,0
64	16,1		16,1	
65	2,9		2,9	
66		4,7	4,7	
Totaux	128,1	88,8	62,0	154,9
Moyennes	11,6 $\pm$ 2,4	11,1 $\pm$ 3,2	8,9 $\pm$ 2,3	12,9 $\pm$ 2,6

TABLEAU XIV

Comparaison glucose II entre les porcs mâles et femelles, muqueuse sublinguale antéro-médiane, 38° C.

SERIES	Transfert en nanomoles / cm 2	Comparaison des moyennes
Mâles	11,6 $\pm$ 2,4 (n = 11)	t = 0,13
Femelles	11,1 $\pm$ 3,2 (n = 8)	

TABLEAU XV

Comparaison glucosse II entre les porcs provenant de l'Allier ou de Belgique, muqueuse sublinguale antéro-médiane, 38° C.

SERIES	Transfert en nanomoles / cm2	Comparaison des moyennes
Allier	8,9 $\pm$ 2,3 (n = 7)	t = 1,16
Belges	12,9 $\pm$ 2,6 (n = 12)	

TABLEAU XVI

Transfert du glucose 14 C, muqueuse sublinguale ventro-latérale de porc, 38° C

(M = Mâles ; F = Femelles ; A = Allier ; B = Belges)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
81	M	A	222,2	35,4
82	M	A	235,2	37,5
83	F	A	142,5	22,6
84	M	A	172,4	27,5
85	M	B	247,7	39,5
86	M	A	143,3	22,8
87	M	B	248,9	39,6
88	F	A	128,3	20,4
89	M	A	241,9	38,5
90	M	A	221,1	35,2
91	F	A	151,2	24,1
92	F	A	172,1	27,4
Totaux	8 M 4 F	10 A 2 B	2 326,9	370,5
Moyennes			193,9	30,9 $\pm$ 2,2

TABLEAU XVII

Comparaison entre les transferts du glucose aux niveaux antéro-médian et ventro-latéral de la muqueuse sublinguale de porc, 38° C.

SERIES	Transfert en nanomoles / cm2				Comparaison des moyennes
Glucose II antéro-médian	11,4	$\pm$	1,9	(n = 19)	t = 6,11 (✱)
Glucose II ventro-latéral	30,9	$\pm$	2,2	(n = 12)	

D. DISCUSSION

- . Nos premières expériences ont utilisé un sucre simple, le glucose, à la concentration de 30 mM/litre, comme substance dissoute dans le milieu d'incubation, et une méthode chimique, à l'anthrone, pour en effectuer le dosage (Tableau I).

Les résultats obtenus font apparaître deux caractéristiques essentielles :

- un "passage" relativement élevé du sucre, de l'ordre de 334 nanomoles/cm²,
- et une hétérogénéité manifeste,

Si la première de ces constatations laisse augurer une bonne perméabilité de la muqueuse sublinguale du porc, la deuxième, en revanche, nous fait douter de la validité de cette technique de dosage appliquée à notre cas particulier ; rappelons que nous avons fourni une explication à ce phénomène (3° chapitre II - A - I).

- . Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons effectué une deuxième série d'expériences, dans les mêmes conditions, mais où les dosages sont réalisés à l'aide d'une méthode radioactive (Tableau II). Les résultats obtenus cette fois permettent de constater que les quantités de glucose transféré sont minimales, puisque leur moyenne n'est que de 6.3 nanomoles/cm². De ce fait, nous avons éliminé la méthode de dosage chimique pour la suite de nos travaux.
- . L'utilisation de saccharose (Tableau III) témoigne d'une augmentation négligeable du transfert. Les 7.8 nanomoles/cm² obtenues, comparées au glucose (Tableau IV) ($t = 0,75$), permettent de penser que la nature et la taille de la molécule importent peu dans le processus envisagé.
- . L'adjonction de phloridzose, à la concentration de 10^{-3} M/litre, (Tableau V) dans le compartiment muqueux de la préparation glucosée, n'entraîne aucune modification appréciable de l'intensité de transfert du glucose (Tableau VI) ($t \neq 0$)

Ce résultat négatif nous autorise à conclure que nous sommes en présence d'un transfert passif, puisque le flux n'est pas sensible à l'action inhibitrice sélective du phloridzozide sur les transporteurs des sucres. Il corrobore ceux obtenus par BOURDIER R. et Coll. dans leurs travaux sur la perméabilité de la muqueuse sublinguale à la L. proline, et au glycolle, chez le mouton ; puis au glycolle, chez le rat, en présence de 2-4 dinitro-phénol.

- . Ce caractère passif ayant été mis en évidence, la question se posait de savoir si la pellicule de tissu conjonctif qui adhère à la muqueuse ne constituait pas un obstacle mécanique au passage du glucose ; auquel cas, une modification de la structure du chorion dans le sens d'une dépolymérisation devait être un élément favorable. Il s'avère que l'adjonction de Thiomucase, à la concentration de 0.67 T.R.U./ml dans les milieux baignant chacune des deux faces de la préparation, n'entraîne qu'une augmentation minime du transfert (Tableau VII) : passage de $6.3 \text{ nanomoles/cm}^2$ à $7.8 \text{ nanomoles/cm}^2$.

La comparaison statistique des moyennes (Tableau VIII) n'est pas significative : $t = 1.27$. Si la molécule de glucose rencontre un obstacle à son transport, c'est donc au niveau de la membrane qu'elle le subit.

- . A partir d'une nouvelle série témoin : Glucose II (Tableau IX) les résultats obtenus montrent qu'un abaissement de la température de 38 à 34°C (Tableau XI) provoque une diminution de transfert de $2.8 \text{ nanomoles/cm}^2$ ($11.4 - 8.6 = 2.8$). Pour un écart de 10°C . BOURDIER note un pourcentage de décrétement de 50% dans le cas parallèle du glycolle utilisé chez le mouton. Nous pouvons alors faire le calcul d'un Q_{10} (Tableau XII) et, par extrapolation, déterminer la quantité de glucose qui serait transportée à 28°C : elle serait de $6.3 \text{ nanomoles/cm}^2$, subissant ainsi un décrétement d'environ 45% .

L'inhibition due à la température est donc sensiblement la même pour le glucose chez le porc, et pour le glycolle chez le mouton. Elle est parfaitement compatible avec la nature passive du transport.

- . Les résultats réunis dans le Tableau XIII font ressortir que le sexe des animaux n'entraîne pas d'écarts notables (Tableau XIV ; $t = 0.13$), contrairement à leur provenance (Tableau XV), bien que cet effet ne soit pas significatif : $t = 1.16$.

Ce dernier phénomène est peut-être attribuable au fait de régimes alimentaires différents dans les centres d'élevage de l'Allier ou de Belgique ; ou encore, autre hypothèse, qu'il existe des différences de perméabilité de la muqueuse sublinguale liées à la race des porcs utilisés.

- . Enfin, si l'on envisage le rôle joué par la répartition anatomique de la zone sublinguale étudiée, on remarque une différence très sensible ; alors qu'au niveau de la muqueuse antéro-médiane la moyenne des transferts du glucose (Tableau IX) est de $11,4 \text{ nanomoles/cm}^2$, elle s'élève (Tableau XVI) à $30.9 \text{ nanomoles/cm}^2$ lorsque les prélèvements sont effectués dans la portion ventro-latérale.

Le calcul statistique (Tableau XVII) montre que la différence est hautement significative : $t = 6.71^*$.

Au terme de ce chapitre nous pouvons conclure à la nature passive des transferts étudiés. Cependant la faible intensité des phénomènes appelle des expériences complémentaires. En effet, BOURDIER a montré que la muqueuse sublinguale du mouton présente une bonne perméabilité aux acides aminés ; il importe donc de déterminer si la divergence des résultats est imputable à la nature des molécules utilisées, ou à l'espèce animale considérée.

Nanomoles/cm²

- 80 -

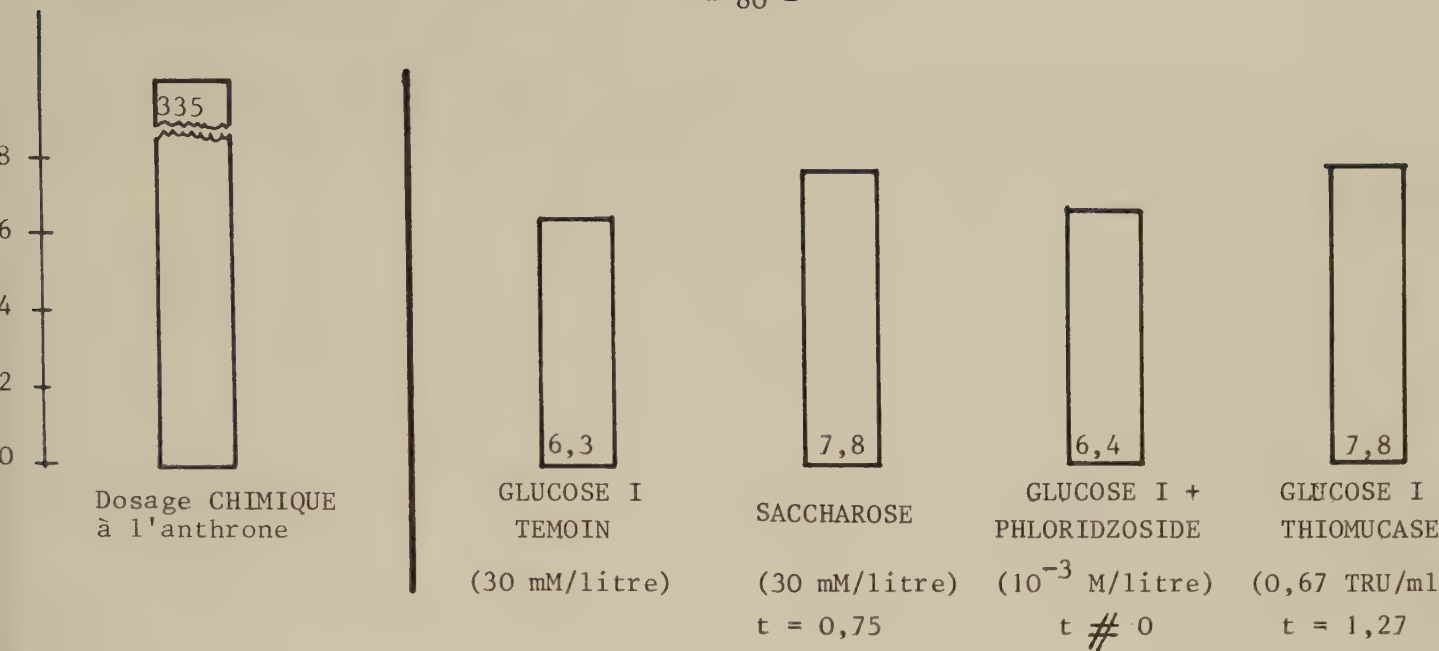


FIGURE 20 - TRANSFERTS AU NIVEAU DE LA MUQUEUSE SUBLINGUALE ANTERO-MEDIANE DU PORC - Après 2 heures d'agitation à 38° C -

Nanomoles/cm²

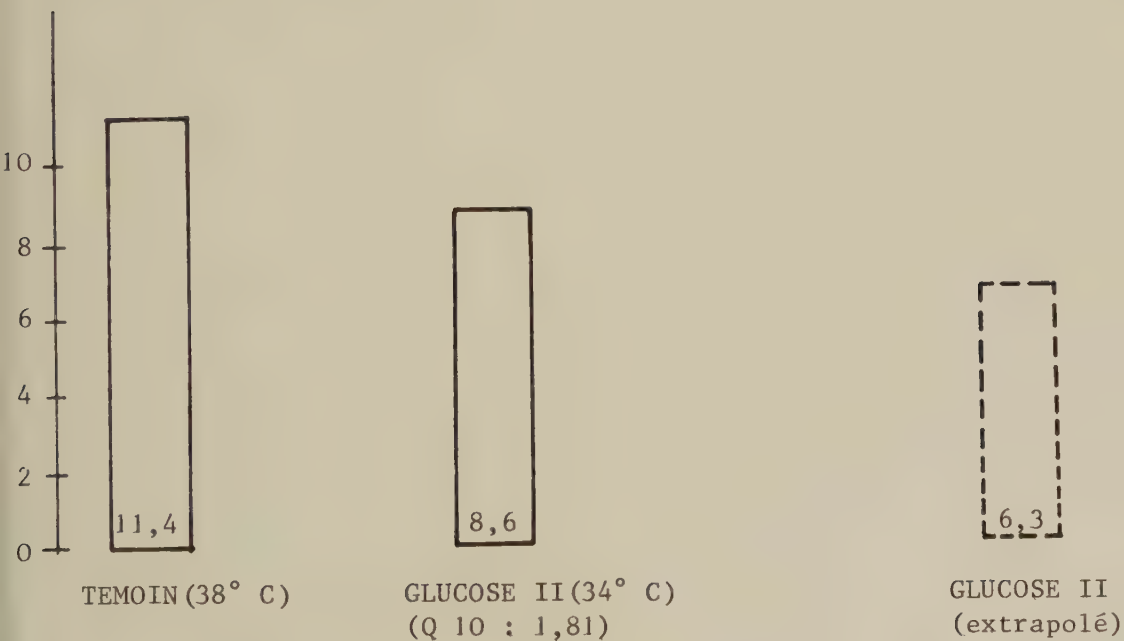


FIGURE 21 - EFFET D'UN ABAISSEMENT DE LA TEMPERATURE SUR GLUCOSE I - après 2 heures d'agitation -

- TRANSFERT DU GLUCOSE AU NIVEAU DES MUQUEUSES SUBLINGUALES DU PORC -
- après 2 heures d'agitation à 38°C - (°) = A.M. = muqueuse antéro-médiane
(°°) = V.L. = muqueuse ventro-latérale

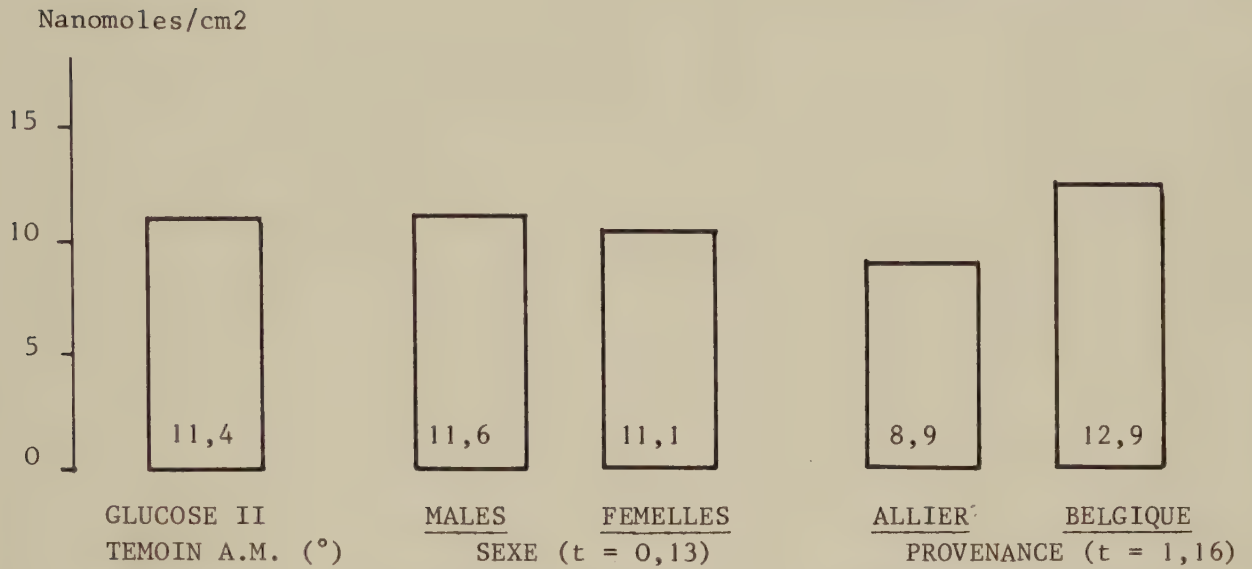


FIGURE 22 - INFLUENCE DU SEXE ET DE LA PROVENANCE DES ANIMAUX
(muqueuse antéro-médiane)

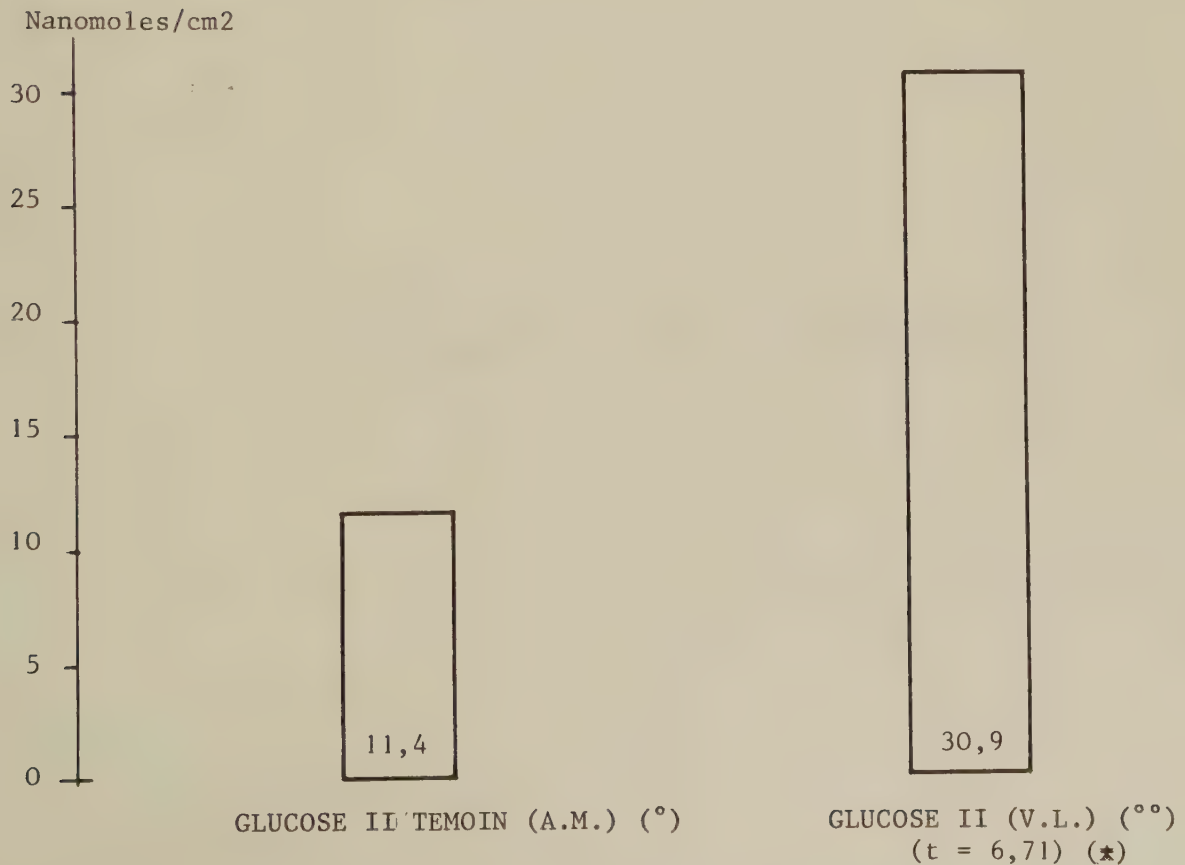


FIGURE 23 - INFLUENCE DE LA ZONE MUQUEUSE

III. Evaluation relative du transport du glucose
à travers la muqueuse sublinguale du porc

A. INTRODUCTION

Dans ce chapitre, nous nous proposons d'apporter quelques éléments permettant de discuter l'intensité du transport du glucose à travers la muqueuse sublinguale du porc, du double point de vue de la nature de la molécule étudiée et de la particularité spécifique éventuelle de l'animal.

Pour cela nous avons choisi de comparer les transports du glucose et du glyocolle, chez le porc et chez le mouton.

Le transport du glyocolle à travers la muqueuse sublinguale du mouton a fait l'objet d'une partie de la thèse de BOURDIER (1). Toutefois, pour ne pas encourir le risque de variations liées à l'expérimentateur, nous avons décidé de reproduire nous-même ces expériences.

B. CONDITIONS EXPERIMENTALES

- . les prélèvements de muqueuse, localisés différemment selon qu'il s'agit du porc ou du mouton (voir chapitre Matériel et Méthodes), sont montés sur la cellule d'incubation (Figures 7 - 8 - 9 - 10).
- . le glucose - ou le glyocolle - est placé du côté muqueux, à la concentration de 30 mM/litre dans du liquide de KREBS HENSELEIT (glc).
- . les dosages sont effectués par scintillation liquide. En conséquence, le milieu muqueux est additionné, dans tous les cas, d'une quantité négligeable de substance uniformément marquée du C^{14} , de telle façon que la solution présente une radio-activité de $0,5 \mu$ Ci/ml pour le glucose, et de $0,25 \mu$ Ci/ml pour le glyocolle.
- . les échantillons du liquide contenu dans le puits central de la cellule sont prélevés après deux heures d'incubation à 38° C.

C. RESULTATS

Nous examinerons successivement :

- . le transfert du glyocolle chez le porc,
- . le transfert du glucose chez le mouton,
- . le transfert du glyocolle chez le mouton.

Compte tenu des valeurs mentionnées dans le chapitre précédent, concernant le transfert du glucose chez le porc, des comparaisons seront effectuées entre les différentes séries.

1. Transfert du glyocolle chez le porc

En fonction de la zone de prélèvement antéro-médiane (Tableau XVIII) ou ventro-latérale (Tableau XIX) on observe, avec le glyocolle, la même différence hautement significative au profit de la région ventro-latérale (Tableau XX) qui avait déjà été constatée avec le glucose (Tableau XVII).

En ce qui concerne l'aspect quantitatif des transferts, il n'apparaît pas de différence entre le glucose et le glyocolle, au niveau antéro-médian, (Tableau XXI) ; par contre, au niveau ventro-latéral, le glyocolle bénéficie d'un meilleur transfert que le glucose : bien que significative (Tableau XXII), la différence n'excède pas 25 p. 100.

2. Transfert du glucose chez le mouton

Le Tableau XXIII fournit l'aspect quantitatif du phénomène.

La comparaison entre les transferts du glucose, chez le porc et le mouton, est résumée dans le Tableau XXIV. La plus grande perméabilité de la muqueuse du mouton apparaît nettement.

3. Transfert du glyocolle chez le mouton

Le Tableau XXV fournit l'aspect quantitatif du phénomène.

La comparaison des transferts du glyocolle, chez le porc et le mouton, est résumée dans le Tableau XXVI ; la plus grande perméabilité de la muqueuse du mouton est confirmée.

Pour terminer, le Tableau XXVII compare le transfert du glucose et du glyocolle chez le mouton et montre que la perméabilité est significativement supérieure pour l'acide aminé,

TABLEAU XVIII

Transfert du glycocolle 14 C, muqueuse sublinguale antéro-médiane de porc, 38° C

(Animaux provenant exclusivement de l'Allier ; M = Mâles ; F = Femelles)

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
93	M	A	164,0	26,1
94	M	A	40,8	6,5
95	M	A	46,4	7,4
96	M	A	20,7	3,3
97	M	A	14,3	2,3
98	F	A	23,2	3,7
99	M	A	56,2	9,0
100	F	A	60,1	9,6
101	M	A	60,6	9,6
102	M	A	173,0	27,7
103	F	A	63,4	10,1
104	F	A	42,9	6,8
Totaux	8 M 4 F	12 A	764,8	121,0
Moyennes			63,8	10,1 $\pm$ 2,4

TABLEAU XIX

Transfert du glycocolle 14 C, muqueuse sublinguale ventro-latérale de porc, 38° C.

(Animaux provenant de l'Allier (A) et de Belgique (B))

Porc N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
105	M	B	122,7	19,5
106	F	B	151,3	24,1
107	F	A	437	69,7
108	M	A	204,5	32,6
109	F	A	178,7	28,5
110	M	A	354,2	56,4
Totaux	3 M 3 F	4 A 2 B	1 448,4	230,8
Moyennes			241,3	38,5 $\pm$ 2,6

TABLEAU XX

Comparaison des transferts du glycocolle aux niveaux antéro-médian et ventro-latéral

	Transfert en nanomoles / cm2	Comparaison des moyennes
Glycocolle A.M.	10,1 $\pm$ 2,4 (n = 12)	* t = 8,06
Glycocolle V.L.	38,5 $\pm$ 2,6 (n = 6)	

TABLEAU XXI

Comparaison des transferts du glucose II et du glycocolle au niveau antéro-médian

Glucose II A.M.	11,4 $\pm$ 1,9 (n = 19)	t = 0,43
Glycocolle A.M.	10,1 $\pm$ 2,4 (n = 12)	

TABLEAU XXII

Comparaison des transferts du glucose II et du glycocolle au niveau ventro-latéral

Glucose II V.L.	30,9 $\pm$ 2,2 (n = 12)	* t = 2,25
Glycocolle V.L.	38,5 $\pm$ 2,6 (n = 6)	

Comparaisons des transferts de glucose et de glycocolle au niveau des muqueuses sublinguales antéro-médiane (A.M.) et ventro-latérale (V.L.) du porc, à 38° C

TABLEAU XXIII

Transfert du glucose 14 C au niveau de la zone muqueuse sublinguale de moutons provenant des Alpes françaises, à 38° C.

(M = Mâles ; F = Femelles)

MOUTON N°	Sexe	Transfert - en nanomoles	
		absolu	par cm2
1	M	1 657,1	263,9
2	M	1 352,9	215,4
3	M	1 613,5	256,9
4	F	1 306,4	208,2
5	M	1 171,3	186,5
6	F	1 153,0	183,6
7	F	1 264,1	201,3
8	F	1 757,3	276,6
9	M	1 203,6	191,6
10	M	1 733,3	276,6
11	F	1 795,7	285,5
12	F	1 648,4	262,5
13	F	1 797,4	286,2
14	M	2 271,5	361,7
15	M	1 717,5	273,5
16	M	1 713,0	272,8
17	F	2 176,5	346,6
18	F	1 613,9	257,0
Totaux	18	28 926,4	4 606,2
Moyennes	9 M 9 F	1 607,2	256,0 $\pm$ 10,7

TABLEAU XXIV

Comparaison des transferts du glucose chez le porc et le mouton au niveau des muqueuses sublinguales à 38° C.

SERIES	Transfert en nanomoles / cm2	Comparaison des moyennes
Porc, muqueuse antéro-médiane	11,4 $\pm$ 1,9 (n = 19)	t = 22,5 (*) t = 20,6 (*)
Porc, muqueuse ventro-latérale	30,9 $\pm$ 2,2 (n = 12)	
Mouton, muqueuse sublinguale totale	256,0 $\pm$ 10,7 (n = 18)	

TABLEAU XXV

Transfert du glycolle 14 C au niveau de la zone muqueuse sublinguale du mouton, à 38° C.

(A = Alpes Françaises ; H = Hongrie)

Mouton N°	Sexe	Provenance	Transfert - en nanomoles	
			absolu	par cm2
19	M	A	2 770,7	441,2
20	F	A	3 449,8	549,3
21	F	A	3 043,8	484,7
22	M	A	3 115	496,0
23	M	A	4 367,2	695,4
24	F	A	5 391,1	858,4
25	M	H	4 399,1	700,5
26	F	H	5 362,4	853,9
27	M	A	4 130,1	657,7
28	M	A	5 361,5	853,7
29	M	A	3 989,8	635,3
30	M	A	4 829,1	768,9
31	F	A	2 945,7	469,1
32	F	A	3 433,9	546,8
Tot aux	8 M 6 F	12 A 2 H	56 589,2	9 010,9
Moyennes			4 042,1	643,6 $\pm$ 40,2

TABLEAU XXVI

Comparaison des transferts de glyocolle chez le porc et le mouton au niveau de la muqueuse sublinguale, à 38° C.

SERIES	Transfert en nanomoles / cm2	Comparaison des moyennes
Porc, muqueuse antéro-médiane	10,1 $\pm$ 2,4 (n = 12)	t = 15,7 (*) t = 15,02 (*)
Porc, muqueuse ventro-latérale	38,5 $\pm$ 2,6 (n = 6)	
Mouton, muqueuse sublinguale totale	643,6 $\pm$ 40,2 (n = 14)	

TABLEAU XXVII

Comparaison des transferts du glucose et du glyocolle au niveau de la muqueuse sublinguale du mouton, à 38° C.

SERIES	Transfert en nanomoles / cm2	Comparaison des moyennes
Glucose	256,0 $\pm$ 10,7 (n = 18)	t = 9,33 (*)
Glyocolle	643,6 $\pm$ 40,2 (n = 14)	

Comparaison PORC - MOUTON

Nanomoles / cm² - agitation 2 heures à 38° C

A.M. : Muqueuse Antéro Médiane de porc

V.L. : Muqueuse Ventro Latérale de porc

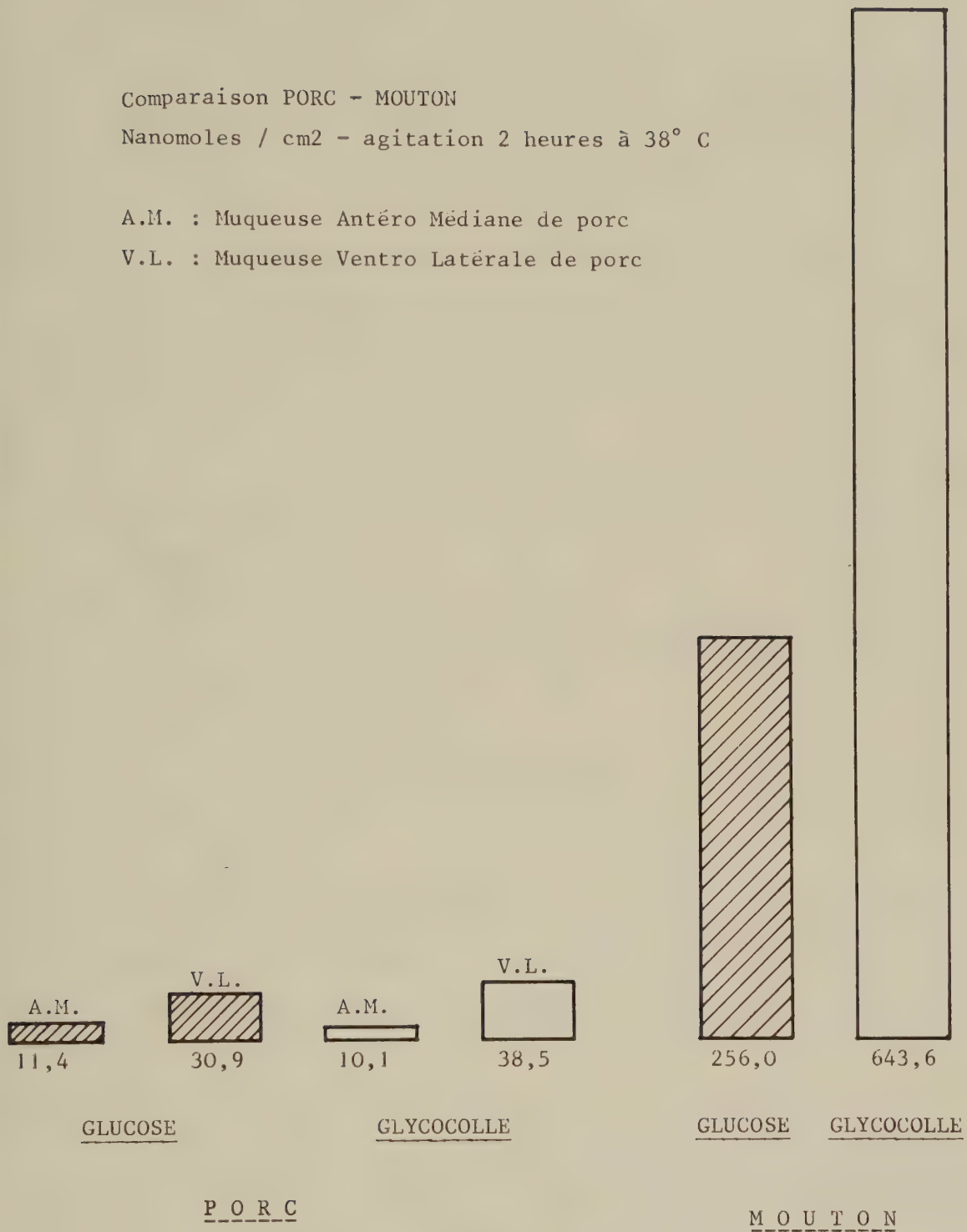


FIGURE 24 - QUANTITES DE GLUCOSE ET DE GLYCOCOLLE TRANSPORTEES AU NIVEAU DES ZONES ANTERO-MEDIANE ET VENTRO-LATERALES DES MUQUEUSES SUBLINGUALES DE PORC ET DE MOUTON .

D. DISCUSSION

- . Chez le PORC, l'utilisation du glyocolle montre à nouveau une nette différence entre les transferts, suivant que l'on utilise l'une ou l'autre des muqueuses antéro-médiane, ou ventro-latérale.

- Dans la première série (Tableau XVIII) la quantité transférée de l'acide aminé est de l'ordre de 10,1 nanomoles/cm². On notera que, bien que voisine, cette quantité est légèrement inférieure à celle observée avec le glucose (Tableau IX) dans la même région anatomique (11,4 nanomoles/cm²).

- Dans la deuxième série d'expériences, la quantité de glyocolle transportée s'élève à 38,5 nanomoles/cm², très supérieure à celle de la première série.

Notons aussi que, dans ce cas, elle est supérieure à celle trouvée pour le glucose (Tableau XVI), toujours à zone anatomique correspondante (30,9 nanomoles/cm²).

En résumé, si l'on compare les transferts du glyocolle et du glucose, chez le porc, on ne trouve pas de différences caractéristiques.

- . En ce qui concerne le MOUTON, nous rappellerons d'abord que la différenciation entre les régions antéro-médiane et ventro-latérale n'a pas été retenue car la surface de la zone ventro-latérale est restreinte. Nous admettons donc l'ensemble muqueux sublingual du mouton comme une unité, dans laquelle la fraction ventro-latérale est considérée comme négligeable.

Chez cet animal, la moyenne des résultats obtenus

- avec le glucose (Tableau XXIII) est de l'ordre de 256,0 nanomoles/cm², ce qui reflète une perméabilité à ce sucre nettement plus élevée que chez le porc, quelle que soit la région considérée chez ce dernier.

- avec le glyocolle (Tableau XXV), les résultats se situent autour d'une moyenne de 643,6 nanomoles/cm², à nouveau très supérieure à celle constatée chez le porc.

A ce stade, nous pouvons comparer nos résultats avec ceux de BOURDIER. Lors d'études cinétiques à 30, 60, 90 et 120 minutes, effectuées in vitro, et en utilisant la même concentration de départ de 30 mM/litre, cet auteur montre, après deux heures, un transfert cumulé de 799 nanomoles/cm² de glycolle chez le mouton.

Compte tenu, d'une part, que la méthode de mesure de la quantité transférée est différente de la nôtre ; d'autre part, que le calcul rapporté au cm² est obtenu à partir de surfaces réelles sensiblement différentes, nous pouvons considérer que nos résultats sont du même ordre de grandeur.

Ayant éliminé la variabilité due à l'expérimentateur nous pouvons conclure que le caractère minime du transfert du glucose et du glycolle chez le Porc apparaît véritablement comme un caractère SPECIFIQUE de relative imperméabilité.

Dans la mesure où l'on accepte de considérer les tissus du Porc comme des modèles satisfaisants de ceux de l'Homme, cette constatation semble capitale.

Aussi, pour approfondir le phénomène et en déterminer les limites, nous avons entrepris d'étendre notre recherche à l'étude de particules jouant un rôle essentiel dans l'équilibre cellulaire, à savoir les ions Na⁺ et K⁺.

QUATRIEME CHAPITRE
ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE DE LA
PERMEABILITE DE LA MUQUEUSE SUBLINGUALE

I. Transfert des ions sodium et potassium

I. TRANSPORT DES IONS Na^+ et K^+

Dans ce chapitre, nous envisagerons différents groupes de résultats, obtenus le plus souvent chez le porc, mais parfois chez le mouton, et mettant en jeu les deux types de méthodes électrophysiologiques décrites dans le chapitre III (1 et 2).

1. Expériences avec électrodes extra-cellulaires

1 - Perméabilité au sodium chez le porc

- . Pour juger de la perméabilité membranaire au sodium, on utilise une méthode assez classique qui consiste à le remplacer par un ion non perméant, tel que la choline ou le Tris^+ .
- . la substitution se fait à égalité de pression osmotique, simultanément sur les deux faces de la préparation.
- . toute variation significative du courant transépithélial indique que le substituant ne remplace pas exactement le Na^+ absent, ce qui est une preuve indirecte de la perméabilité de la membrane vis-à-vis de cet ion.

Lorsque Na^+ est remplacé par Tris^+ , les résultats reproduits ci-dessous semblent traduire une diminution du courant transépithélial, mais la petitesse des valeurs numériques ne permet pas d'en faire une exploitation approfondie.

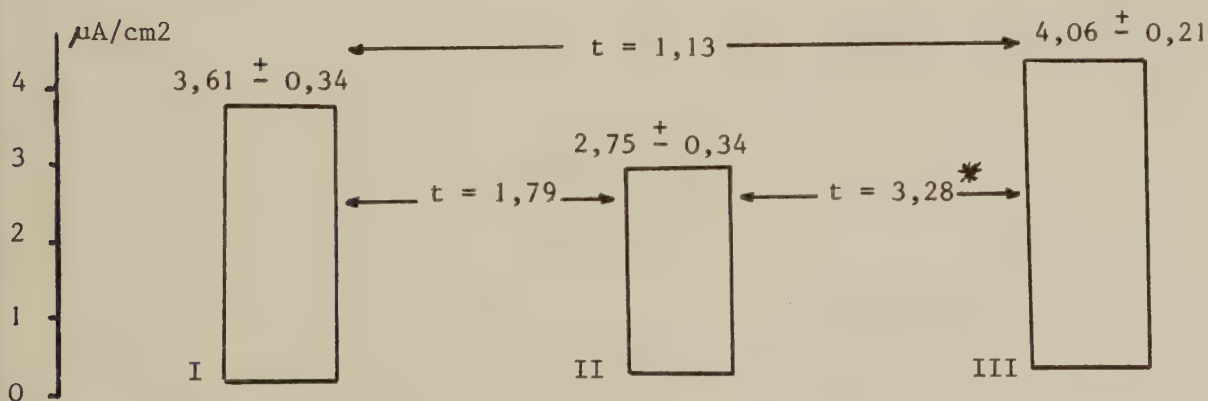


FIGURE 25 - EVOLUTION DU COURANT TRANSEPITHELIAL SOUS L'EFFET D'UNE SUPPRESSION BILATERALE DE Na^+ ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$) ($n = 7$) ;
MUQUEUSE SUBLINGUALE DE PORC

I - III : Krebs - Na^+

II : Krebs - Tris^+

Nous tiendrons ces résultats pour indicatifs, et nous devons utiliser une méthode plus sensible avant de conclure (voir page 97).

Néanmoins, dès maintenant, du fait du sens de variation du courant, nous émettrons l'hypothèse que le courant sodique à travers la face muqueuse est supérieur, en valeur absolue, au courant sodique de sens contraire, qui se manifeste à travers la face interne de la cellule épithéliale.

2 - Perméabilité au sodium chez le mouton

Le même type d'expériences que précédemment est réalisé ; les résultats sont les suivants :

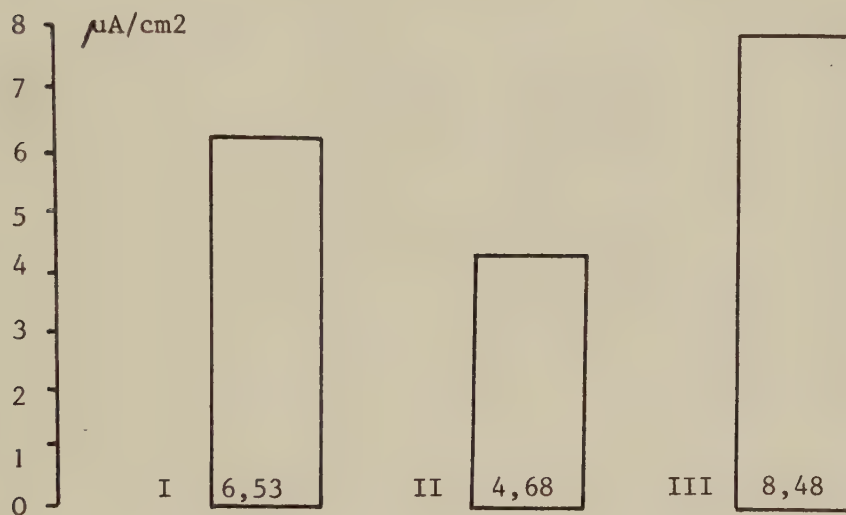


FIGURE 26 - EVOLUTION DU COURANT TRANSEPITHELIAL SOUS L'EFFET D'UNE SUPPRESSION BILATERALE DE Na^+ ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$) ($n = 4$; nombre de résultats insuffisant pour envisager un calcul statistique) ; muqueuse sublinguale de mouton.

I - III : KREBS - Na^+
II : KREBS - TRIS^+

On aboutit aux mêmes constatations que précédemment. Toutefois on note que le courant transépithélial, chez le mouton, est environ le double de ce qu'il est chez le porc, ce qui va dans le même sens que les constatations antérieures concernant la plus grande perméabilité de la muqueuse du mouton aux substances organiques.

2. Expériences avec micro électrode intra-cellulaire

1 - Perméabilité au sodium chez le porc

L'utilisation d'une microélectrode intra-cellulaire permet d'analyser séparément les phénomènes électriques qui se développent sur les faces apicale et basale d'une cellule épithéliale.

Dans les conditions normales (Krebs - Na^+) le profil électrique de la cellule épithéliale sublinguale est du type "puits" avec une polarisation positive de la face interne par rapport à la face muqueuse (de l'ordre de 12 mV) (Figure 27).

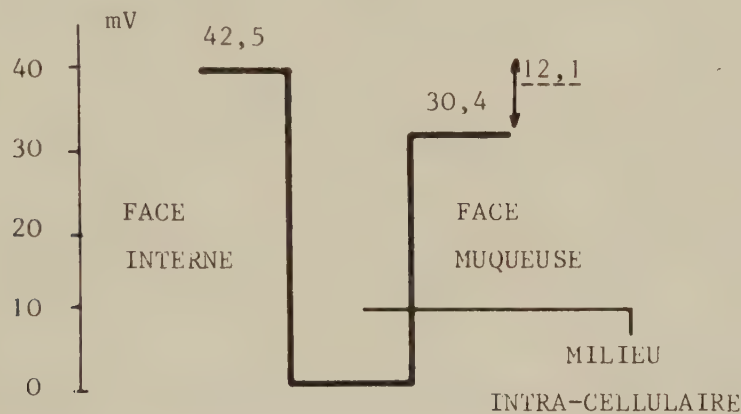


FIGURE 27 - PROFIL ELECTRIQUE DE LA CELLULE EPITHELIALE DE LA MUQUEUSE
SUBLINGUALE DU PORC

Le remplacement de Na^+ par un ion non perméant, ici la choline, est effectué successivement sur chacune des faces de la préparation,

Compte tenu du retour dans un milieu Krebs - Na^+ , après chaque séjour dans un milieu modifié, on observe les variations ci-après (Figure 28).

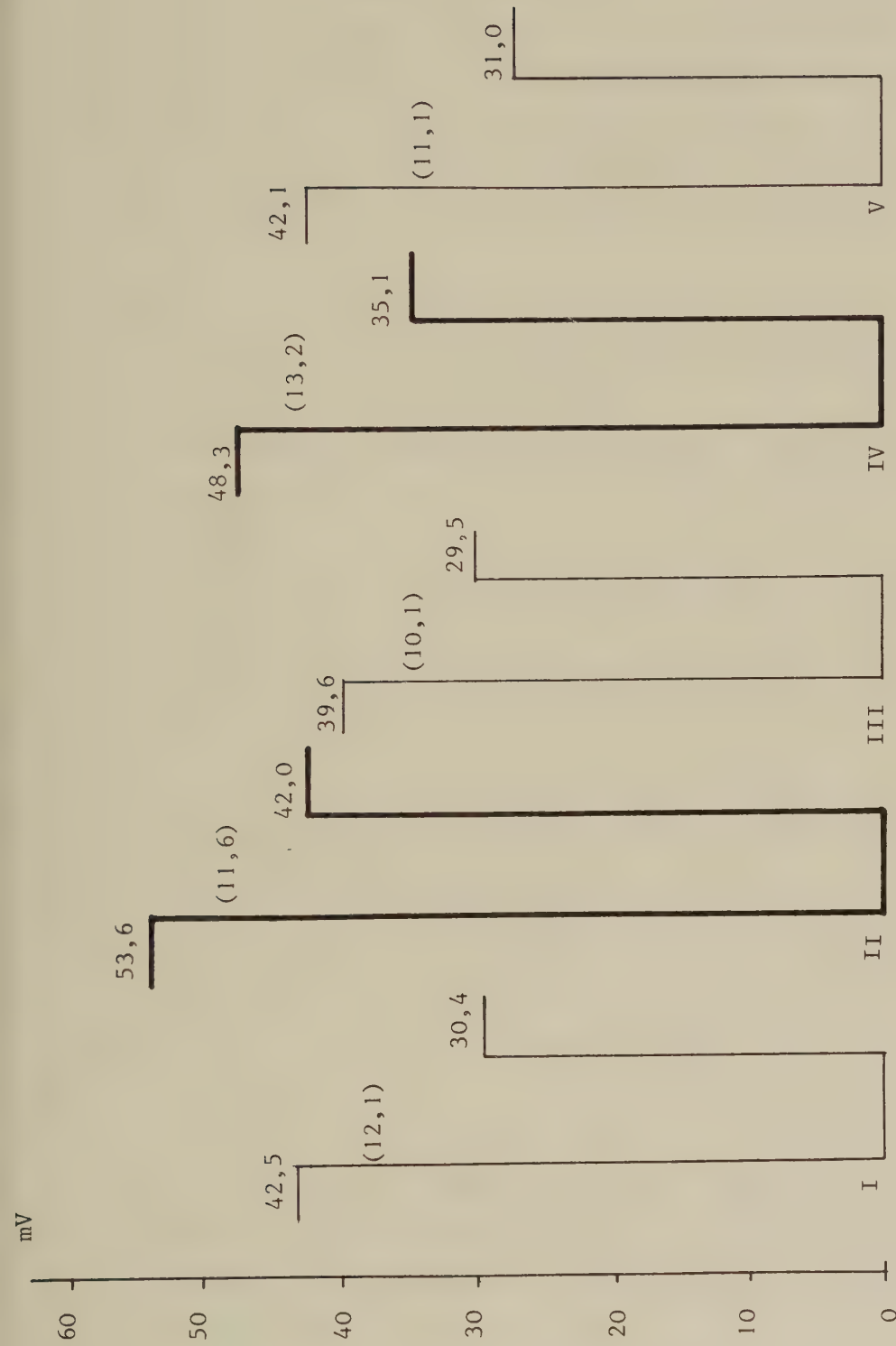


FIGURE 28 - EVOLUTION DES POTENTIELS TRANSMEMBRANAIRES SOUS L'EFFET D'UNE SUPPRESSION UNILATERALE DE SODIUM (mV). MUQUEUSE SUBLINGUALE DE PORC.

- I - III - V : Krebs Na⁺
- II : Krebs-Choline sur la face Muqueuse
- IV : Krebs⁻ Choline sur la face Interne

- On constate que le remplacement de Na^+ par choline, aussi bien sur la face muqueuse que sur la face interne, se manifeste par une augmentation de la ddp au niveau de la face considérée. Ceci traduit le rôle que jouait précédemment le sodium sur chacune de ces deux faces, à savoir une pénétration, par diffusion, tendant à rendre positif le compartiment intracellulaire. La suppression alternée de ce courant de diffusion accroît la ddp transmembranaire, tantôt sur une face, tantôt sur l'autre.

- On remarquera :

- . que la variation de ddp induite par le changement sur la face muqueuse est de 11,6 mV (30,4 $\rightarrow$ 42,0) ;
- . alors que la variation consécutive à la modification de milieu sur la face interne n'est que de 8,7 mV (39,6 $\rightarrow$ 48,3).

Ce résultat est en accord avec l'hypothèse d'un courant sodique transmembranaire plus important à travers la face muqueuse qu'à travers la face interne (voir page 94) ce qui, par voie de conséquence, implique que la résistance des deux faces doit être sensiblement de même valeur.

- On notera enfin que la variation de ddp induite au niveau de la face subissant le changement de milieu se répercute avec un certain décrétement sur la face opposée qui est restée en contact avec le milieu physiologique normal. Ce phénomène assez général est interprété comme la preuve de l'existence d'un shunt extra-cellulaire (Figure 29) (WHITE et ARMSTRONG) (1971) (32), (ROSE ET SCHULTZ) (1971) (33).

Dans la présente expérience, l'action sur la face muqueuse se traduit par une répercussion de 95,7 % sur la face interne, tandis que l'action sur la face interne se traduit par une répercussion de 64,4 % sur la face muqueuse.

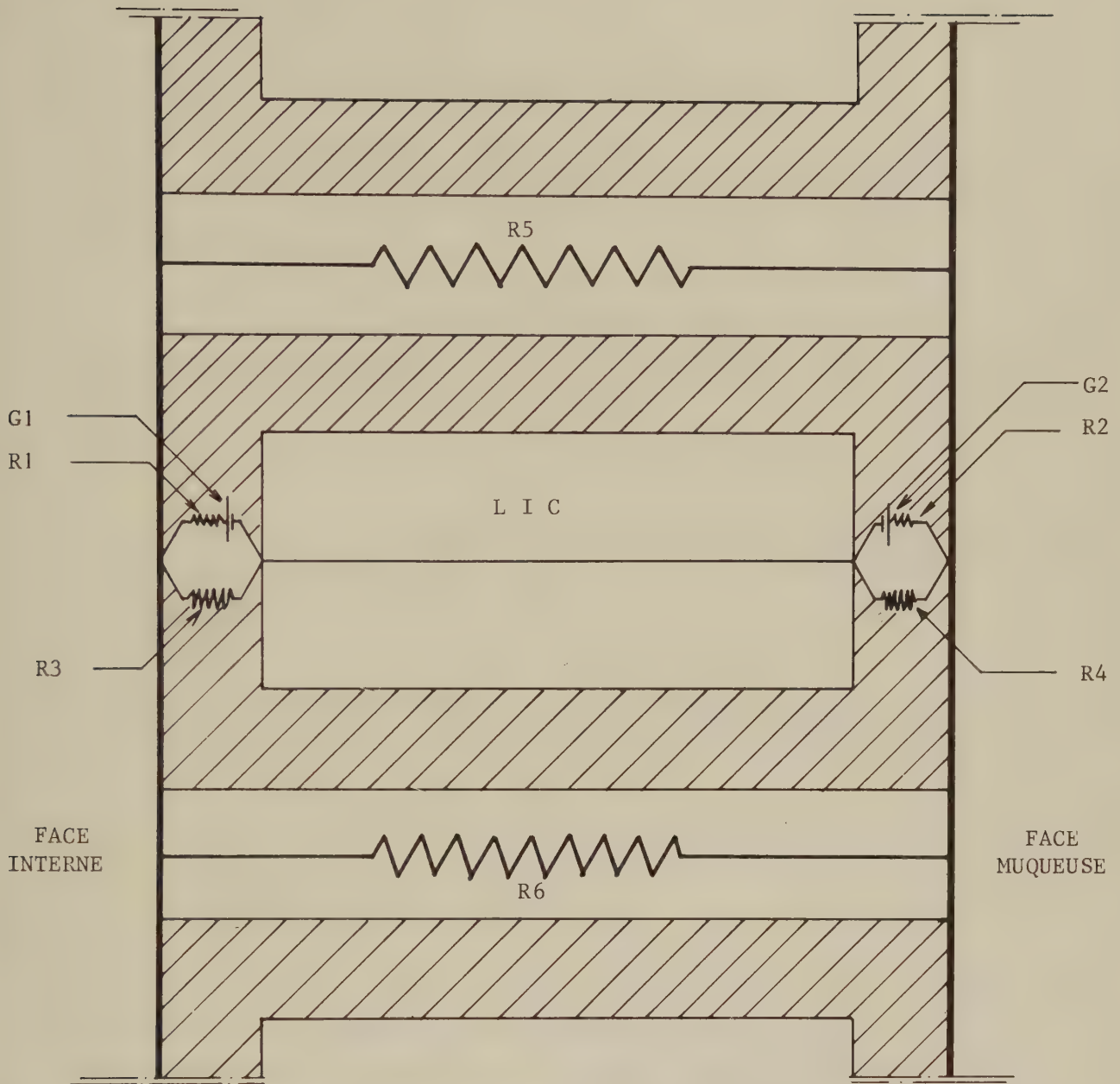


FIGURE 29 - SCHEMA DE SHUNT EXTRA-CELLULAIRE- d'après WHITE et ARMSTRONG - (1971) et ROSE et SCHULTZ - (1971)



Membrane plasmique

- LIC : Liquide Intra Cellulaire
- G_1 G_2 : Générateurs membranaires
- R_1 R_2 : Résistances internes des générateurs
- R_3 R_4 : Résistances membranaires
- R_5 R_6 : Résistances des shunts extra-cellulaires

2 - Perméabilité au potassium chez le porc

On équilibre la préparation dans un milieu témoin où 50 % du sodium est remplacé par de la choline ; on désigne ce milieu sous le nom de KREBS-Choline - Na/2.

Ensuite, on applique, tantôt sur une face, tantôt sur l'autre, une solution où la choline est remplacée par une quantité équivalente de potassium, on revient au milieu initial après chaque séjour dans un milieu modifié, on observe la séquence suivante (Figure 30) :

. l'action de la surcharge en K^+ , sur la face interne, se traduit par une baisse de la ddp transbasale de 7,5 mV, avec une répercussion sur la face muqueuse de 17,3 % ;

. l'action sur la face muqueuse se traduit par une baisse de la ddp transmuqueuse de 6,5 mV, avec une répercussion de 67,7 % sur la face interne.

Dans les deux cas, la chute de potentiel observée traduit la réduction du flux sortant de K^+ participant à la polarisation positive de la face correspondante de la cellule.

Il n'y a pas de différence significative entre les effets directs produits par l'augmentation de concentration des ions K^+ , sur l'une ou l'autre face. Ceci peut être interprété comme l'indice que les flux sortants de potassium sont sensiblement égaux aux deux pôles opposés de la cellule, et ne contribuent donc pratiquement pas à la polarisation transépithéliale.

. en ce qui concerne les faces opposées, on observe la même divergence (avec des taux différents) que pour la perméabilité au Na^+ . Ce phénomène demeure, pour l'instant, inexpliqué.

. finalement, si l'on considère que Na^+ et K^+ sont habituellement les ions les plus perméants, on pourra conclure que la polarisation transépithéliale serait essentiellement due à l'excès du flux entrant de Na^+ à la face muqueuse de la cellule.

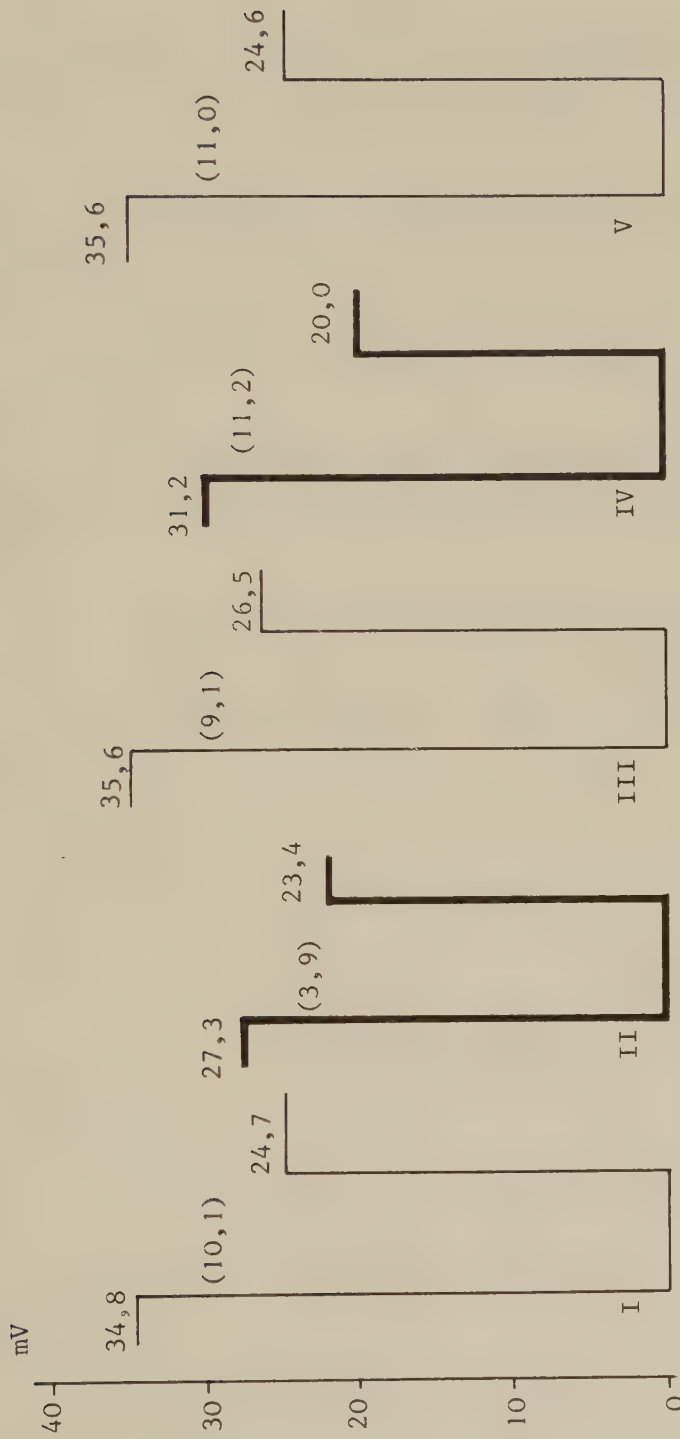


FIGURE 30 - EVOLUTION DES POTENTIELS TRANSMEMBRANAIRES, SOUS L'EFFET D'UNE SURCHARGE UNILATERALE EN POTASSIUM (mV) - Muqueuse sublinguale de Porc (n = 8)

- I - III - V : Krebs Choline Na/2 (50 % de Na⁺ remplacé par Choline)
- II : Krebs K⁺ sur la face INTERNE (Choline remplacée par K⁺)
- IV : Krebs K⁺ sur la face MUQUEUSE (Choline remplacée par K⁺)

Le dernier point qui mérite d'être discuté est celui de savoir si les variations de ddp observées au niveau d'une face concernée par un changement de milieu sont dues :

- . à une variation de la résistance électrique de cette face,
- . ou bien à celle du courant qui la traverse.

Pour répondre, on étudie l'évolution de la résistance trans-épithéliale (R.ep.) au cours de l'utilisation des différents milieux. Cette résistance est calculée comme il a été indiqué dans le chapitre méthodes.

On obtient le tableau suivant :

TABLEAU XXVIII

EVOLUTION DE LA RESISTANCE TRANSEPITHELIALE DE LA PREPARATION BAIGNEE PAR DIFFERENTS MILIEUX (muqueuse sublinguale de porc ; surface = 2 cm²)

	V μ V	I μ A	R. totale Ω	R. liquide Ω	R.ep. Ω	R.ep. Ω cm ²
KREBS CHOLINE - Na/2 début	8 000	7,84	1 020	20	1 000	2 000
fin		7,24	1 105		1 085	2 170
K ⁺ face interne début		6,87	1 164		1 144	2 288
fin		6,76	1 183		1 163	2 326
KREBS CHOLINE - Na/2 début		6,52	1 227		1 207	2 414
fin		6,49	1 233		1 213	2 426
K ⁺ face muqueuse début		6,11	1 309		1 289	2 578
fin		6,04	1 325		1 305	2 610
KREBS CHOLINE - Na/2 début		5,69	1 406		1 386	2 772
fin		5,53	1 447		1 427	2 854

On constate qu'il y a une augmentation régulière de la résistance au cours du temps, qui semble tout à fait indépendante de la nature des milieux d'incubation.

Elle est vraisemblablement due au vieillissement de la préparation.

On peut donc en déduire que la résistance de chaque face de la cellule épithéliale n'est sujette à aucune variation brutale, lors d'un changement de milieu extra-cellulaire.

En conséquence, les variations de ddp observées correspondent effectivement à des variations de COURANTS.

On peut enfin vérifier que, dans un milieu KREBS - Choline (Na/2) bilatéral, on retrouve des courants transépithéliaux du même ordre de grandeur que ceux qui ont été mesurés précédemment (Figure 25, page 93) dans un milieu KREBS - Na⁺, ce qui se justifie pleinement puisqu'on a montré que la suppression totale de Na⁺ affecte peu le courant transépithélial.

TABLEAU XXIX

COURANT TRANSEPITHELIAL AU NIVEAU D'UNE MUQUEUSE SUBLINGUALE DE PORC INCUBÉE DANS UN MILIEU KREBS-CHOLINE Na/2 (milieu I = milieu III = milieu V)

	V (μ V)	R (Ω .cm ²)	I (μ A/cm ²)
Milieu I	10.100	2 170	4,65
Milieu III	9.100	2 426	3,75
Milieu V	11.000	2 854	3,85

On constate que les courants transépithéliaux sont toujours très faibles, et on soulignera que les valeurs de la ddp transépithéliale sont, par contre, relativement élevées (de l'ordre de 12 mV).

Ceci est dû à la forte résistance de la préparation (de l'ordre de 2 500 Ω .cm²). On a ici un bon exemple du peu d'importance qu'il faut attribuer aux mesures brutes de la ddp, et au caractère indispensable de la connaissance de la résistance de la préparation.

On peut imaginer que la majorité de la résistance transépithéliale se répartit également entre les deux faces opposées de la cellule, ce qui permet de former l'hypothèse que les courants transmembranaires sont loin d'être négligeables, puisque des valeurs de 30 à 38 mV sont observées pour les potentiels transmembranaires.

On concluera donc que la cellule sublinguale du porc est relativement perméable aux ions, mais qu'elle n'est pas favorable au transport transépithélial de ces ions.

Cette opinion est à rapprocher de celle de GABLER (W.L.) (1968) (34) qui estime que l'absorption de l'ion fluorure à travers les muqueuses orales du rat, est beaucoup plus lente que l'absorption par voie intestinale ;

Un avis opposé est exprimé par MAUVERNAY (R.Y.) (1960) (35) qui estime que le transport de l'iode (et des ions en général) serait plutôt satisfaisant, par la voie sublinguale, chez le lapin ;

On signalera, pour terminer, que d'autres auteurs ont prétendu que le transfert des ions sodium et potassium, à travers les muqueuses orales, pourrait ne pas être un phénomène de simple diffusion (KAWAMURA Y. et TAKATA M.) (1960) (36).

II. Rapports éventuels entre le transport des ions
et des molécules organiques

I. INTRODUCTION

. De très nombreux auteurs ont observé une corrélation étroite entre le transport actif de certains sucres et acides aminés, et l'apparition d'un accroissement de l'intensité des courants électriques à travers divers épithéliums (intestin notamment).

. L'interprétation la plus généralement admise, est que des ions participeraient aux interactions entre la molécule transportée et son "transporteur", et qu'un flux ionique accompagnerait le passage transépithélial de la substance.

La nature de l'espèce ionique impliquée dans le phénomène est encore discutée ; la majorité des auteurs (SCHULTZ et CURRAN) (37) envisage l'intervention des ions Na^+ , mais les contradictions, observées avec certaines préparations, autorisent à penser que les ions K^+ ne doivent pas être systématiquement écartés (BUCLON) (en 1974) (38).

. Quoiqu'il en soit, il est admis par tous que la variation positive d'un courant transépithélial, sous l'effet d'un sucre ou d'un acide aminé, est l'indice indiscutable du transport actif de la substance considérée.

A titre de vérification des conclusions des IIIe et IVe chapitres, nous avons entrepris d'examiner les conséquences de l'addition de glucose ou de glyocolle dans le milieu physiologique baignant la face muqueuse de l'épithélium sublingual du porc.

II. METHODES

On utilise la technique des électrodes extra-cellulaires.

La préparation est équilibrée dans un milieu de KREBS - HENSELEIT non glucosé, puis des additions répétées de glucose, ou de glyocolle, sont

effectuée de 10 en 10 minutes, dans la compartiment muqueux, de façon à réaliser des concentrations successives de 4 - 8 - 16 et 32 mM/litre.

. l'enregistrement continu de la ddp transépithéliale et
. la mesure régulière de la résistance électrique de la préparation,
permettent de calculer le courant transépithélial dans les différents milieux.

III. RESULTATS

TABLEAU XXX

ACTION DU GLUCOSE SUR LE COURANT TRANSEPITHELIAL AU NIVEAU
DE LA MUQUEUSE SUBLINGUALE DU PORC (n = 5)

[C]	glucose mM/l	Résistance Ω .cm ²	Courant μ A/cm ²
	0	3 335	3,99
	4	3 388	4,05
	8	3 382	4,19
	16	3 407	4,29
	32	3 470	4,40

TABLEAU XXXI

ACTION DU GLYCOCOLLE SUR LE COURANT TRANSEPITHELIAL AU NIVEAU
DE LA MUQUEUSE SUBLINGUALE DU PORC (n = 5)

[C]	glycocolle mM/l	Résistance Ω .cm ²	Courant μ A/cm ²
	0	3 618	4,47
	4	3 581	4,53
	8	3 682	4,30
	16	3 656	4,39
	32	3 704	4,47

IV. DISCUSSION

- . Les courants transépithéliaux spontanés sont comparables à ceux qui ont été obtenus précédemment (Figure 25) (Tableau XXIX).
- . Quant aux variations de ces courants, elles sont nulles pour le glycolle, et tout à fait négligeables pour le glucose (dans les limites d'erreurs des mesures effectuées).
- . De toutes façons, on doit conserver présent à l'esprit que les transports actifs de glucose ou de glycolle, au niveau de l'intestin, s'accompagnent d'une variation des courants transépithéliaux de 50 à 100 μ A/cm².

Nous avons ainsi une nouvelle preuve du caractère purement passif des transferts du glucose, et du glycolle, à travers la muqueuse sublinguale du porc.

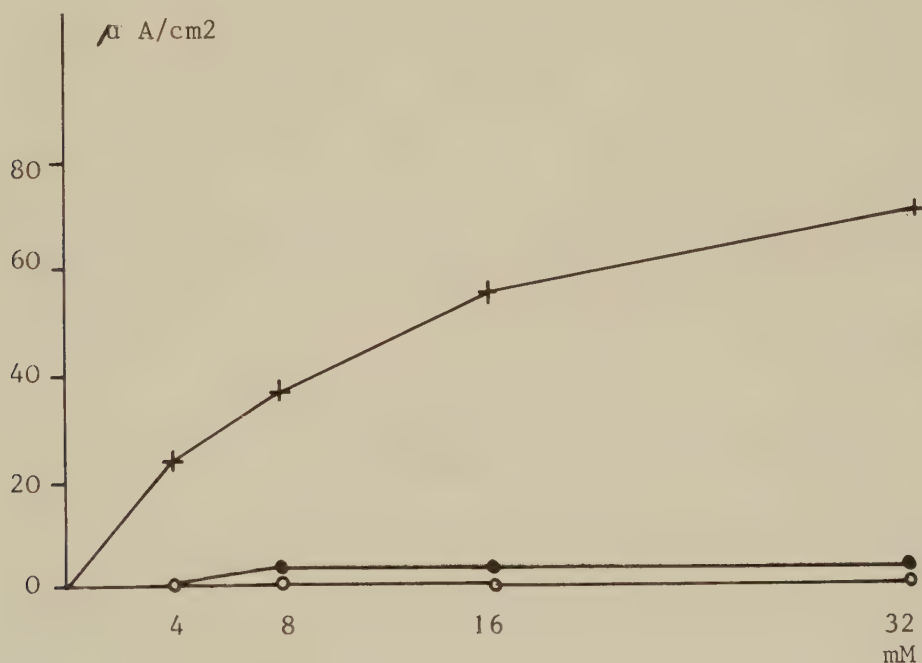


Figure 31 - COURANTS TRANSEPITHELIAUX DE TRANSFERT D'UN SOLUTE ORGANIQUE PLACE DANS LE MILIEU MUQUEUX.

- | | |
|---|------------------------------|
| . Muqueuse sublinguale de porc (Glucose) | $\Delta I : 0,41 \mu A/cm^2$ |
| o Muqueuse sublinguale du porc (Glycolle) | $\Delta I : 0,00 \mu A/cm^2$ |
| + Muqueuse intestinale de tanche (Glycolle) | $\Delta I : 70 \mu A/cm^2$ |

CINQUIEME CHAPITRE
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS

Dans ce dernier chapitre nous envisagerons en détail les points qui ressortent plus particulièrement de l'étude que nous avons présentée.

. En premier lieu nous insisterons sur le choix de l'animal utilisé, c'est-à-dire le PORC. On sait que ce mammifère omnivore a des organes reconnus pour modèle de ceux de l'HOMME. A l'appui de cette similitude d'organismes, nous citerons un rapport de la N.A.S.A. qui considère que *"les porcs sont plus appropriés que les chiens ou les singes pour participer à des expériences sur l'apesanteur dans l'espace, leurs organes étant semblables à ceux de l'HOMME."*

Certains résultats chirurgicaux obtenus chez l'HOMME exploitent et confirment cette analogie. C'est ainsi que sur le plan CUTANE la peau de Porc est actuellement utilisée, pour des propriétés immunologiques, comme tissu de remplacement provisoire chez certains grands brûlés.

BOURDIER n'a pas eu la facilité de se procurer des muqueuses de Porc. Les conditions étant devenues plus favorables, nous avons pu obtenir ce matériel dont l'intérêt nous paraît très important :

En effet, il est permis de penser que les tissus de revêtement MUQUEUX présentent également de grandes analogies chez le Porc et chez l'HOMME et, dans cette hypothèse, que les résultats observés chez l'animal sur le plan des phénomènes de TRANSFERTS pourront être considérés comme un bon modèle des manifestations qui se produisent chez l'Homme.

. L'anatomie de la muqueuse sublinguale présente une particularité à souligner dans le cas d'expériences "in vitro" : c'est à son niveau antérieur que débouchent les canaux de WHARTON, lesquels drainent, de chaque côté, la totalité de la sécrétion salivaire sous-maxillaire et la majeure partie de la sécrétion sublinguale (une faible quantité de cette dernière est déversée par de fins canalicules annexes tenus pour négligeables).

L'ostium d'un canal de WHARTON étant d'un diamètre assez important, on pourrait craindre qu'après dissection muqueuse, il constitue une "ouverture" par laquelle "passent" les substances étudiées.

Deux arguments permettent d'affirmer que ce n'est pas le cas, car si les ostiums étaient une voie de pénétration,

- des transferts aussi bas que deux ou trois nanomoles/cm² ne pourraient pas être observés après deux heures d'incubation,

- ces transferts seraient inévitablement supérieurs dans la zone antéro-médiane puisque la zone ventro-latérale est tapissée d'un épithélium continu.

Or nous avons constaté l'INVERSE. Il faut donc admettre que lors de l'excision de la muqueuse sublinguale antérieure les canaux de WHARTON sont exclus ou bien - à notre avis c'est plus probable - qu'il se produit une constriction de leurs ostiums.

Bien que ce phénomène ne soit pas expliqué, nous lui attribuons un intérêt double car il nous met à l'abri d'erreurs quantitatives de dosages, et surtout parce qu'il est la PREUVE indirecte de la plus grande perméabilité de la muqueuse ventro-latérale.

. En ce qui concerne les études "in vitro", nous constatons qu'elles sont extrêmement rares dans la littérature spécialisée. Bien que la physiologie soit essentiellement une science du vivant, et que les résultats obtenus sur des tissus isolés n'aient d'intérêt que dans la mesure où ils confirment, et précisent (ou bien sont confirmés et précisés par) les données fournies par l'expérimentation "in vivo", nous estimons que ce type d'expériences est indispensable. Dans un ensemble aussi polymorphe que celui des muqueuses buccales il doit permettre, d'une part, de situer des zones précises de transfert dont il n'est plus permis de douter que certaines sont privilégiées et, d'autre part, de mettre en évidence les mécanismes intervenant à leurs différents niveaux.

Le problème que l'on est en droit de se poser lorsqu'on opère sur un tissu isolé est celui de la conservation de son intégrité physiologique. Nos expériences nécessitant deux heures d'incubation, on pourrait craindre que les résultats correspondent à des préparations ayant perdu une partie de leurs propriétés biochimiques initiales. Nous pensons être à l'abri d'une telle critique car KAWAMURA et TAKATA (36) ont montré, sur des muqueuses sublinguales de chiens, que la consommation d'oxygène n'est pas diminuée au bout de 120 minutes. Cette manifestation métabolique normale jusqu'en fin d'expérience est pour nous une garantie de résultats fiables.

. Sur le plan de la réalisation pratique des expériences, l'intérêt de la cellule d'incubation imaginée par BUCLON est à souligner. L'utilisation que BOURDIER a faite de ce dispositif original a montré qu'il permet un contrôle précis des surfaces, volumes, et concentrations utilisés préférable à ceux dont nous avons connaissance.

Les modifications que nous avons apportées à ce montage permettent une augmentation sensible des surfaces muqueuses utilisables, ainsi qu'une rapidité et une sécurité accrues de leur manipulation ; elles ne changent rien au caractère princeps recherché, c'est-à-dire une concentration maxima des substances transférées, afin d'éviter leur dispersion, dans le plus petit volume possible des solutions à doser.

. Les résultats obtenus, soit au moyen de la cellule d'incubation, soit au moyen des dispositifs électrophysiologiques, sont caractérisés par leur convergence :

- les dosages radio-actifs effectués sur deux sucres simples (glucose et saccharose) et un acide aminé (glycocolle) montrent qu'ils sont transférés en quantités minimales à travers la muqueuse sublinguale du Porc, et que les mouvements ont un caractère passif.

- les ions Na^+ et K^+ eux-mêmes passent très lentement à travers le tissu considéré. Bien que les ddp transmembranaires ne soient pas négligeables, les courants transépithéliaux restent minimales.

- les courants ioniques, associés au transfert de molécules organiques, sont nuls en présence de glycolle, et non significatifs en présence de glucose, confirmant la nature PASSIVE des mouvements de ces substances.

En tout état de cause la très faible perméabilité de la zone sublinguale est surtout évidente dans la région antéro-médiane.

Par contre, dans la région ventro-latérale, nous avons constaté des passages sept à dix fois supérieurs.

Bien qu'il s'agisse de zones apparemment identiques sur les plans anatomiques et histologiques, leur comportement différent du point de vue de la perméabilité conduit à poser le problème de la définition de ZONES responsables de l'absorption de substances introduites dans la cavité buccale.

Si l'on accepte le Porc comme modèle de l'Homme, on peut admettre que ce n'est pas la région sublinguale "sensu stricto" qui est responsable de certaines pénétrations médicamenteuses, mais qu'il y aurait lieu d'envisager une surface plus vaste englobant probablement la totalité des revêtements de la cavité buccale.

Cet aspect mérite particulièrement d'être retenu lorsqu'on envisage la perméabilité "in vivo", qui doit tenir compte de la présence de la salive :

. La sécrétion salivaire est permanente ; elle augmente considérablement sous l'effet de facteurs psycho-somatiques, physiques, et surtout chimiques. Dès qu'une substance est introduite sous la langue il se développe une hypersalivation réflexe qui entraîne deux conséquences :

- une dilution du produit actif,
- une augmentation de volume des solutions médicamenteuses contenues dans la bouche, d'où une dispersion hors de l'espace sublingual proprement dit.

En résumé, à moins que les passages transmuqueux ne soient obtenus dans un temps très bref, il devient illusoire de parler "in vivo" d'absorptions locales précises.

. De toutes façons l'ensemble muqueux de la cavité orale bénéficie d'une riche vascularisation qui ne le cède en rien à celle de l'espace sublingual. Les neuf collatérales de la carotide externe lui assurent une circulation artérielle intense. L'anatomie de son système veineux est encore plus intéressante puisque toutes les veines drainant les muqueuses buccales se jettent dans les jugulaires externes pour rejoindre les veines sous clavières. Le foie est donc court-circuité et toute substance résorbée au niveau de ces muqueuses est distribuée dans l'organisme avant de subir une éventuelle dégradation hépatique.

. La basse perméabilité de la région sublinguale que nous avons démontrée pose le véritable problème de la signification exacte de cette zone dans les absorptions médicamenteuses.

- Le bilan négatif du transfert du glyco-colle, le plus simple des acides aminés, permet une interprétation de l'inefficacité de certaines molécules protéiques complexes administrées par la voie des muqueuses buccales. C'est le cas de l'insuline - KORBSCH J. (39), WALTON R.P. et LACEY C.F. (40), SACHS D.R. (41) ; et de l'anatoxine tétanique pour laquelle BOURDIER (1) a montré que, chez le rat, cette protéine purifiée n'est pas transférée par voie sublinguale et qu'en conséquence, lors des vaccinations par aérosols, la réponse anticorps est liée au captage de l'antigène au niveau du système respiratoire.

- On peut admettre que la faible solubilité des protéines dans la phase lipidique membranaire nuit à leur passage transépithélial.

. Finalement, on peut considérer trois groupes de substances :

- Celles dont l'introduction dans la région linguale entraîne un effet thérapeutique RAPIDE - c'est le cas de la TRINITRINE - bien que EVANS W. et HOYLE C. (en 1934) (42) aient retenu la partie supérieure de la langue comme région probable de passage, il convient de rester prudent dans l'interprétation des zones de transfert à envisager pour ce médicament ;

- Celles pour lesquelles une voie LENTE de pénétration est recherchée ; la région sublinguale paraît alors particulièrement indiquée - c'est le cas du PERLINGOR - ;

- Les substances pour lesquelles on recherche avant tout le court-circuit de la voie hépatique. Dans ce cas on peut envisager une absorption buccale globale (Lantigen B (°), Héparine lipocaïque (°°), maxilase (°°°), glossithiase (°°°°), etc...).

On classera à part certains produits capables de provoquer une réaction immunitaire locale, tels que l'IMUDON (°°°°°) pour lequel CHAMBAZ (21) a montré que l'action immunologique met en jeu aussi bien l'immunité humorale (augmentation significative du taux des gamma globulines sériques) que l'immunité cellulaire (stimulation de l'activité phagocytaire des cellules réticulo-histiocytaires). Les travaux de cet auteur témoignent d'une action anti-infectieuse du produit et d'un effet VACCINANT dans certains cas de lésions parodontales.

Si on compare les passages sublinguaux nuls d'anatoxine tétanique notés par BOURDIER et les réactions gingivales positives observées par CHAMBAZ, on pose une fois de plus le problème de localisation des zones considérées. Nous pensons que ces résultats différents, loin d'être contradictoires, sont la démonstration d'une DIVERSITE FONCTIONNELLE fondamentale des tissus de revêtement muqueux de la bouche.

(°) Laboratoires CASSENNE
(°°) Laboratoires BIOSEDRA
(°°°) Laboratoires PERRIER
(°°°°) Laboratoires JOLLY et JATEL
(°°°°°) Laboratoires SARBACH

. Pour améliorer la connaissance des phénomènes de perméabilité des muqueuses buccales, trois axes paraissent riches de possibilités :

- D'une part, le développement de méthodes "in vivo", excluant la voie digestive, et mettant en jeu la totalité des muqueuses buccales ; l'utilisation éventuelle de porcs nains favoriserait une telle étude.

- D'autre part, le développement des méthodes de dosage quantitatif de médicaments réputés absorbés au niveau buccal ; le marquage radio-actif des molécules apparaît comme le moyen le plus sélectif et le plus souple pour déceler leur apparition dans l'organisme.

- Enfin, la méthode "in vitro" pourrait être étendue à d'autres zones du revêtement buccal, notamment aux faces inférieure et supérieure de la langue, et au sillon gingivo-jugal. Notre technique de portoirs le permet.

CONCLUSIONS

Après une recherche histologique préliminaire, la perméabilité de la muqueuse sublinguale du porc a été étudiée "in vitro" en mesurant le transfert de substances radioactives et en analysant les propriétés électrophysiologiques des tissus.

Le glucose, le saccharose et le glycolle sont transférés en quantités minimales et les mouvements ont un caractère passif.

Les ions Na^+ et K^+ sont perméants à travers les faces apicale et basale de la cellule muqueuse, mais leurs déplacements ne sont pas couplés à ceux des substances précédentes.

La très faible perméabilité de la zone sublinguale aux molécules organiques envisagées est surtout évidente dans la région antéro-médiane ; par contre dans les régions ventro-latérales, les passages sont nettement supérieurs.

L'ensemble des résultats permet d'avancer que, lors d'applications médicamenteuses dans la cavité orale, il y a lieu d'envisager des zones d'absorption dépassant la seule région sublinguale et englobant d'autres régions du revêtement buccal.

Le Président de la Thèse :

Vu, le Directeur de
l'U.E.R. des Sciences Odontologiques

VU et permis d'imprimer
LYON, le

20 SEP 1976

Le Président de l'Université Claude-Bernard
~~Pour le Président, le 1^{er} Vice-Président~~
Président du Comité de Coordination Médicale



D GERMAIN
R. TOURAINE

B I B L I O G R A P H I E

(par ordre d'arrivée dans le texte)

1. BOURDIER (R.)

Etude de la perméabilité de la muqueuse sublinguale à deux acides aminés et à l'anatoxine tétanique.

- Thèse de 3e Cycle de Sciences Odontologiques. 104 pages. Lyon 1973.

2. OVERTON (E.)

Beitrag zur all gemeinen Muskel und Nervenphysiologie Pflug.

- Arch. Ges. Physiol., 1902, pp. 115-280.

3. WALTON (R.P.) and LACEY (C.F.)

Absorption of drugs through the oral mucosa.

- J. Pharmacol. Exp. Therap., 1935, 54, pp. 61-76.

4. WALTON (R.P.)

Absorption of drugs through the oral mucosa III

Fatwater solubility coefficient of alkaloids.

- Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1935, 32, pp. 1488-1492.

5. WALTON (R.P.)

Further studies dealing with the sublingual absorption of drugs.

- J. Pharmacol. Exp. Therap., 1936, 57, p. 148.

6. WALTON (R.P.)

Sublingual administration of drugs.

- J. Amer. Med. Assoc., 1944, 124, pp. 138-143.

7. BECKETT (A.H.) and TRIGGS (E.J.)

Buccal absorption of basic drugs and its application as an "in vivo" model of passive drug transfert through lipid membranes.

- J. Pharm. Pharmac., 1967, 19, suppl., pp. 31S-41S.

8. BECKETT (A.H.), BOYES (R.N.) and TRIGGS (E.J.)
Kinetics of buccal absorption of amphetamines.
- J. Pharm. Pharmac., 1968, 20, pp. 92-97.
9. BECKETT (A.H.) and MOFFAT (A.C.)
Influence of alkyl substitution in fat acids on their performance
in the buccal absorption test.
- J. Pharm. Pharmac., 1968, 20, suppl., pp. 2395-2475.
10. BECKETT (A.H.) and MOFFAT (A.C.)
The influence of substitution in phenylacetic acids on their performance
in the buccal absorption test.
- J. Pharm. Pharmac., 1969, 21, suppl., pp. 1395-1435.
11. BECKETT (A.H.), KOUROUNAKIS (P.), VAUGHAN (D.P.) and MITCHARD (M.)
The absorption, blood concentrations, and excretion of pentazocine
after oral, intramuscular, or rectal administration to man.
- J. Pharm. Pharmac., 1970, 22, suppl., pp. 1695-1745.
12. BECKETT (A.H.) and MOFFAT (A.C.)
The buccal absorption of some barbiturates.
- J. Pharm. Pharmac., 1971, 23, pp. 15-18.
13. BECKETT (A.H.), GORROD (J.W.) and JENNER (P.)
A possible relation between pKa and lipid solubility and the amounts
excreted in urine of some tobacco alkaloids given to man.
- J. Pharm. Pharmac., 1972, 24, pp. 115-120.
14. BOURDIER (R.), VIAL (H.), BENEY (G.) et BUCLON (M.)
La perméabilité de la muqueuse sublinguale aux molécules organiques.
I - Transfert "in vitro" de la L. Proline chez le mouton.
- Bull. Soc. Sci. Vet. et Méd. Comp., Lyon 1972, 74, pp. 199-205.
15. BOURDIER (R.), VIAL (H.) et BUCLON (M.)
La perméabilité de la muqueuse sublinguale aux molécules organiques.
II - Transport "in vivo" et "in vitro" du glycofolle chez le rat.
- Bull. Soc. Sci. Vet. et Méd. Comp., Lyon 1973, 75, pp. 253-262.

16. BUCLON (M.), BOURDIER (R.), CARTIER (M.) et FONTANGES (R.)
La perméabilité de la muqueuse sublinguale aux molécules organiques.
III - Rôle éventuel de la voie sublinguale dans la vaccination par aérosols.
- C.R. Soc. Biol., 1975, 169, pp. 1227-1231.

17. SIVORI (L.), REBAUDI (U.), MENNITI (I.)
I principi, la tecnica, le applicazioni dell' enzimocagione.
- Archivi di Biologia, Gènes, 1929, 6, pp. 3-40.

18. VALLS CONFORTO
Casuistics of hemorrhoidal patients.
- Hämolind Abstracts, Zürich, Pharmakon Ltd, pp. 36-39.

19. SPENCE (A.W.)
- Brit. Med. J., 1942, 1, p. 668.

20. MIESCHER (K.) and FASCHE (P.)
- Schweiz. Med. Wochenschr., 1942, 72, p. 279.

21. CHAMBAZ H.
Immunologie et parodontologie. Contribution à l'étude d'une immuno-
thérapie polyvalente dans le traitement des parodontopathies.
- Thèse de 3e Cycle de Sciences Odontologiques, Lyon - 1973, 170 p.

22. KREBS (H.A.) und HENSELEIT (K.)
Untersuchungen über die Harnstoffbildung in Tierkörper.
- Hoppe Seyl. Z., 1932, 210, pp. 33-36.

23. TESTUT (L.) et LATARJET (A.)
Traité d'anatomie humaine, 1949, tome IV, Ed. G. Doin & Cie.

24. ÖSTER (R.H.), PROUTT (L.M.), SHIPLEY (E.R.), POLLACK (B.R.) and BRADLEY (J.E.)
Human salivary buffering rate measured in situ in response to an acid
stimulus found in some common beverages.
- J. app. Physiol. USA., 1953, 6, pp. 348-354.

25. CLEMENTS (R.M.)

Saliva : its composition and function.

- Jour. Missouri. Dent. Ass., 1968, 48, n° 11.

26. GANDUS (C.)

Contribution à l'étude des variations du pH salivaire au cours des parodontolyses chroniques.

- Thèse de 3e Cycle de Sciences Odontologiques, Paris 1973.

27. BARONE (R.)

Anatomie comparée des mammifères domestiques.

- Tome I, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 1966, pp. 201-209.

28. CASTAIGNE (A.) et ANSELEM (A.)

Application de la turbidimétrie au dosage de la chondrosulfatase.

- Centre d'Etudes pour l'Industrie Pharmaceutique, Toulouse - France.,
10 - V - 1965.

29. WILSON (T.H.) and WISEMAN (G.)

The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface.

- J. Physiol. (London)., 1954, 123, pp. 116-125.

30. ROE (J.H.)

The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent.

- J. Biol. Chem., 1955, 212, pp. 335-343.

31. BRAY (G.A.)

A simple efficient liquid scintillation for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter.

- Analyt. Biochem., 1960, 1, pp. 279-285.

32. WHITE (J.F.) and ARMSTRONG (W.M.)

Effect of transported solutes on membrane potentials in bullfrog small intestine.

- Amer. J. Physiol. (1971), 221, pp. 194-201.

33. ROSE (R.C.) et SCHULTZ (S.E.)
- J. Gen. Physiol., 1971, 57, pp. 639-663.
34. GABLER (W.L.)
Absorption of fluoride through the oral mucosa of rats.
- Archs. Oral. Biol., 1968, 13, pp. 619-623.
35. MAUVERNAY (R.Y.)
L'absorption perlinguale.
- Le Pharmacien de France, Janvier 1960, n° 2, pp. 53-54.
36. KAWAMURA (Y.) and TAKATA (M.)
Studies on the permeability of the oral mucosa.
I - Permeability of inorganic ions.
- J. Dent. Res., 1960, 39, pp. 517-524.
37. SCHULTZ (S.G.) et CURRAN (P.F.)
Coupled transport of sodium and organic solutes.
- Physiol. Rev., 1970, 50, pp. 637-718.
38. BUCLON (M.)
Etude physiologique et électrophysiologique du transport des acides aminés à travers le tube digestif de la tanche.
- Thèse Doct. Sc. Nat. - Poitiers 1974, 207 p.
39. KORBSCH (J.)
- Klin Wochenschr., 1925, 4, p. 2327.
40. WALTON (R.P.) and LACEY (C.F.)
- J. Pharmacol. Exp. Ther., 1936, 57, p. 148.
41. SACHS (D.R.)
- Texas State, J. Med., 1941, 37, p. 39.
42. EVANS (W.) et HOYLE (C.)
The prevention and treatment of individual attacks of angina pectoris (angina of effort).
- Quart. J. Med., 1934, 3, pp. 105-135.

(par ordre alphabétique)

Le (ou les) numéros (s) qui suit (vent) chaque nom d'auteur correspond (ent) à la référence bibliographique donnée dans le chapitre précédent.

A

- ANSELEM (A.) - voir CASTAIGNE (A.) (28)
ARMSTRONG (W.M.) - voir WHITE (J.F.) (32)

B

- BARONE (R.) - (27)
BECKETT (A.H.) - (7 - 8 - 9 - 10 - 11 - 12 - 13)
BENEY (G.) - voir BOURDIER (R.) (14)
BOURDIER (R.) - (1 - 14 - 15 - 16)
BOYES (R.N.) - voir BECKETT (A.H.) (8)
BRADLEY (J.E.) - voir ÖSTER (R.H.) (24)
BRAY (G.A.) - (31)
BUCLON (M.) - (16 - 38)

C

- CARTIER (M.) - voir BOURDIER (16)
CASTAIGNE (A.) - (28)
CHAMBAZ (H.) - (21)
CLEMENTS (R.M.) - (25)
CURRAN (P.F.) - voir SCHULTZ (S.G.) (37)

E

- EWANS (W.) - (42)

F

- FASCHE (P.) - voir MIESCHER (K.) (20)
FONTANGES (R.) - voir BOURDIER (R.) (16)

G

- GABLER (W.L.) - (34)
GANDUS (C.) - (26)
GORROD (J.W.) - voir BECKETT (A.H.) (13)

H

- HENSELEIT (K.) - voir KREBS (H.A.) (22)
HOYLE (C.) - voir EVANS (W.) (42)

J

- JENNER (P.) - voir BECKETT (A.H.) (13)

K

- KAWAMURA (Y.) - (36)
KORBSCH (J.) - (39)
KOUROUNAKIS (P.) - voir BECKETT (A.H.) (11)
KREBS (H.A.) - (22)

L

- LACEY (J.F.) - voir WALTON (R.P.) (3) (40)
LATARJET (A.) - voir TESTUT (L.) (23)

M

MAUVERNAY (R.Y.) - (35)
MENNITI (I.) - voir SIVORI (L.) (17)
MIESCHER (K.) - (20)
MITCHARD (M.) - voir BECKETT (A.H.) (11)
MOFFAT (A.C.) - voir BECKETT (A.H.) (10)

O

ÖSTER (R.H.) - (24)
OVERTON (E.) - (2)

P

POLLACK (B.R.) - voir ÖSTER (R.H.) (24)
PROUTT (L.M.) - voir ÖSTER (R.H.) (24)

R

REBAUDI (U.) - voir SIVORI (L.) (17)
ROE (J.H.) - (30)
ROSE (R.C.) - (33)

S

SACHS (D.R.) - (41)
SCHULTZ (S.E.) - voir ROSE (R.C.) (33)
SCHULTZ (S.G.) - (37)
SHIPLEY (E.R.) - voir ÖSTER (R.H.) (24)
SIVORI (L.) - (17)
SPENCE (A.W.) - (19)

T

TAKATA (M.) - voir KAMAMURA (Y.) (36)
TESTUT (L.) - (23)
TRIGGS (E.J.) - voir BECKETT (A.H.) (8)

V

VALLS CONFORTO - (18)
VAUGHAN (D.P.) - voir BECKETT (A.H.) (11)
VIAL (H.) - voir BOURDIER (R.) (15)

W

WALTON (R.P.) - (3 - 4 - 5 - 6)
WHITE (J.F.) - (32)
WILSON (T.H.) - (29)
WISEMAN (G.) - voir WILSON (T.H.) (29)

Nous avons également consulté les publications et ouvrages généraux suivants :

- Anatomie de la tête et du cou.

E. OLIVIER. Edition A. LEGRAND et J. BERTRAND, 1946, p. 190-203.

- L'absorption cutanée.

B. CHRISTØL-JALBY, A. AMSELEM et J. DEWALS.

Concours Médical, 1965, 87 (15), p. 2547-2558.

- Anatomie de la muqueuse buccale.

C. BIOU, Actualités Odonto-Stomatologiques, 1962, 60, p. 457.

- Généralités sur la muqueuse buccale.

A. CHAPUT, Collection Médico-Chirurgicale - Tome Stomatologie.

Edition MASSON et Cie, p. 527-538.

FABRE (Jean-Marie). — La Perméabilité de la muqueuse sublinguale au glucose, au glycolle, au sodium et au potassium / par Jean-Marie Fabre, ... — [s.l.] : [S.n.], 1976. — (Lyon : CANDY) 120 F. : ill., graph. ; 30 cm. — (Thèse : 3° cycle ; Sci. Odontol. : Lyon : 1976)
n° 43.12.76.03

Rubrique de classement :

PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

Mots clés : Perméabilité. Transport passif. Potentiels de membranes. Courant de court-circuit. Sublingual. Oral. Glucose, saccharose, glycolle, sodium, potassium. Porc. Mouton.

43.12.76.03

FABRE (Jean-Marie). — La Perméabilité de la muqueuse sublinguale au glucose, au glycolle, au sodium et au potassium. (Thèse : 3° cycle ; Sci. Odontol. : Lyon : 1976)
n° 43.12.76.03

Après une recherche histologique préliminaire, la perméabilité de la muqueuse sublinguale du porc a été étudiée « in vitro » en mesurant le transfert de substances radioactives et en analysant les propriétés électrophysiologiques des tissus.

Le glucose, le saccharose et le glycolle sont transférés en quantités minimales et les mouvements ont un caractère passif.

Les ions Na^+ et K^+ sont perméants à travers les faces apicale et basale de la cellule muqueuse, mais leurs déplacements ne sont pas couplés à ceux des substances précédentes.

La très faible perméabilité de la zone sublinguale aux molécules organiques envisagées est surtout évidente dans la région antéro-médiane ; par contre dans les régions ventro-latérales, les passages sont nettement supérieurs.

L'ensemble des résultats permet d'avancer que, lors d'applications médicamenteuses dans la cavité orale, il y a lieu d'envisager des zones d'absorption dépassant la seule région sublinguale et englobant d'autres régions du revêtement buccal.

MeSH : Permeability. Passive transport. Membrane potentials.
Short-circuit-current. Sublingual. Oral.
Glucose, sucrose, glycine, sodium, potassium.
Fig. Sheep.

JURY : Président : M. le Professeur G. FAUCON
Assesseurs : M. le Professeur R. FONTANGES
M. le Professeur J. PARRET

(Le nom souligné indique le Directeur de la Thèse)

Adresse de l'auteur :

J.M. FABRE, 51, rue Montesquieu - 69007 LYON